Aus dem Institut für Pharmakologie und Toxikologie
der Philipps-Universität in Marburg
Direktor: Professor Dr. med. W. Schmid

Abteilung für angewandte und klinische Pharmakologie
Leiter: Professor Dr. med. M. Siess

Leistung und Oxydation ^{14}C-markierter Substrate des Eiweiß-, Fett- und Kohlenhydratstoffwechsels in spontanschlagenden, isolierten Meerschweinchenherzvorhöfen unter Einwirkung von Pharmaka

INAUGURAL - DISSERTATION
zur Erlangung des Doktorgrades
der Zahnheilkunde der Hohen Medizinischen Fakultät
der Philipps - Universität Marburg

vorgelegt von

János Bartos

aus Budaörs/Ungarn

Marburg 1970

Kleinoffsetdruck: Görich & Weiershäuser, Marburg

Aus dem Institut für Pharmakologie und Toxikologie
der Philipps-Universität in Marburg
Direktor: Professor Dr. med. W. Schmid

Abteilung für angewandte und klinische Pharmakologie
Leiter: Professor Dr. med. M. Siess

Leistung und Oxydation ^{14}C-markierter Substrate des Eiweiß-, Fett- und Kohlenhydratstoffwechsels in spontanschlagenden, isolierten Meerschweinchenherzvorhöfen unter Einwirkung von Pharmaka

INAUGURAL - DISSERTATION
zur Erlangung des Doktorgrades
der Zahnheilkunde der Hohen Medizinischen Fakultät
der Philipps - Universität Marburg

vorgelegt von

János Bartos

aus Budaörs/Ungarn

Marburg 1970

Kleinoffsetdruck: Görich & Weiershäuser, Marburg

Die Arbeit wurde mit Unterstützung der Deutschen Forschungsgemeinschaft durchgeführt.

UNIV. LEIDEN BIBL.

Angenommen von der Medizinischen Fakultät
der Universität Marburg am : 12. März 1970

Gedruckt mit Genehmigung der Fakultät

Dekan: Prof. Dr. rer. nat. P. Karlson
Referent: Prof. Dr. med. M. Siess
Correferent: Prof. Dr. med. dent., Dr. med. H. Heuser

Inhaltsverzeichnis

		Seite
I.	E I N L E I T U N G	1
II.	M E T H O D I K	3
	A. Versuchstiere	3
	B. Versuchsmaterialien	4
	1. Nährlösung	4
	2. Herstellung der Nährlösung mit ^{14}C-markierten Substraten	4
	C. Versuchsanordnung	7
	1. Prinzip der Methode	7
	2. Änderungen	8
	D. Quantitative Größen	8
	1. Kontraktionsleistung des Herzvorhofs	8
	2. Exogener Substratverbrauch aus der Decarboxylierungsrate ^{14}C-markierter Substrate	9
	3. Berechnung des Nutzeffektes	11
	a) Glucose	12
	b) Hexanoat	12
	c) Nonanoat	12
	d) Aminosäuren	12
	E. Berechnungsmethoden	12
	1. Berechnung des arithmetischen Mittelwertes ($\bar{x}$)	12
	2. Die mittlere Streuung des Mittelwertes	13
	3. Die Berechnung der Steigung der Regressionsgeraden	13
	F. Fehlermöglichkeiten	13
	1. der Decarboxylierungsrate	13
	2. der Kontraktionsamplitude	13
	3. der Frequenz	13

Seite

III. VERSUCHSERGEBNISSE 15

A. Untersuchung über die Beteiligung exogener Substrate am oxydativen Stoffwechsel des Herzmuskels 15

1. Fettsäuren 15

a) Die Aufnahme und Oxydation von Na-^{14}C-U-Nonanoat 15

b) Die Beeinflussung der Decarboxylierungsrate von ^{14}C-Glucose mit inaktivem Na-Nonanoat und Hexanoat 16

b1. Hemmung der ^{14}C-Glucoseoxydation durch Na-Nonanoat 16

b2. Hemmung der ^{14}C-Glucoseoxydation durch Zugabe von inaktivem Na-Hexanoat 17

c) Die Decarboxylierungsrate von ^{14}C-Na-Hexanoat unter Zugabe von Na-Nonanoat 17

2.Glycerin 18

a) Versuche mit ^{14}C-Glycerin 18

b) Versuche mit inaktivem Glycerin bei Inkubation mit ^{14}C-Glucose und ^{14}C-Na-Hexanoat 18

b1. Inkubation mit ^{14}C-Glucose 18

b2. Inkubation mit ^{14}C-Na-Hexanoat 19

3. Aminosäuren 19

a) Aspartate 19

a1. Die Decarboxylierungsrate von Na-^{14}C-U-L-Aspartat und ihre Beeinflussung durch Pharmaka 19

a2. Versuche der Beeinflussung der Decarboxylierungsrate von ^{14}C-Glucose und ^{14}C-Na-Hexanoat mit nichtmarkierten Aspartaten 20

b) Na-Glutaminat 23

b1. Versuche mit Na-^{14}C-U-L-Glutaminat 23

Seite

b2. Beeinflussung der Decarboxylierungsrate von ^{14}C-Glucose und ^{14}C-Hexanoat bei Zusatz inaktiven Na-Glutaminats 24

c) Versuche mit Na-Glycinat und Na-Lysinat bei Inkubation mit ^{14}C-Glucose oder ^{14}C-Na-Hexanoat 25

c1. Inkubation mit ^{14}C-Glucose 25

c2. Inkubation mit ^{14}C-Na-Hexanoat 26

B. Prüfung der Beeinflussung der Decarboxylierungsrate von ^{14}C-Glucose, ^{14}C-Na-Hexanoat und ^{14}C-Na-L-Aspartat durch verschiedene Agentien 26

Tabelle 2 26a

1. Nikotinsäure und Derivate 27

a) Nikotinsäure 27

b) Pyridyl-Carbinol 27

c) Diaethyl-Nikotinamid = Nicethamid (Coramin^{R}) 27

2. Carnitinchlorid 28

3. α - Liponsäure (= Thioctacid) 29

4. Cocarboxylase (= Thiaminpyrophosphatchlorid = Berolase^{R}) 29

5. 5-(2-Oxo-hexahydro-1H-thieno(3,4-d) imidazolyl-(4)-valeriansäure = Biotin 29

6. Insulin 29

C. Prüfung von Substanzen mit vorwiegendem Angriffspunkt in der Herzleistung 30

1. ß-Rezeptorenstimulierende Substanzen 30

a) Isoprenalin (Aludrin^{R}) 30

Seite

b) 1-(3-Hydroxyphenyl)-2-(phenyl-butyl-(2)-amino)-äthanol-(1) = D 477 A 31
2. Glucagon 32
3. Theophyllin (Euphyllin^{R}) 32
4. Leistungssteigerung durch vorwiegend positiv-inotrope Wirkung 33
5. Agentien mit Hemmwirkungen auf Kontraktilität und Frequenz 34
a) ß-Rezeptorenblocker 34
b) Die Wirkung von Lidocain (Xylocain^{R}) und Procain (Novocain^{R}) 35
c) Diphenylhydantoin (Epanutin^{R}) 35
IV. D I S K U S S I O N 37
1. Die Oxydation exogener ^{14}C-markierter Substrate durch isolierte Herzvorhöfe 37
a) Fettsäuren 37
b) Glycerin 39
c) Aminosäuren 39
2. Die Beeinflussung der Oxydationsrate von ^{14}C-Glucose, ^{14}C-Na-Hexanoat und ^{14}C-Na-Aspartat durch stoffwechselwirksame Agentien 43
3. Die Beeinflussung der Oxydation exogener ^{14}C-Substrate durch leistungssteigernde Agentien 44
a) ß-Rezeptoren stimulierende Stoffe 44
b) Glucagon 46
c) Euphyllin (Theophyllin^{R}) 47
d) Strophanthin 47
4. Hemmwirkungen 48
V. ZUSAMMENFASSUNG 50
VI. LITERATURVERZEICHNIS 53

I. EINLEITUNG

Die Methode der gleichzeitigen kontinuierlichen Registrierung von Kontraktionsamplitude und Frequenz an spontanschlagenden Herzvorhöfen zusammen mit der Decarboxylierungsrate ^{14}C-markierter Substrate in einem rezirkulierenden System erlaubt direkte und indirekte Wirkungen von Pharmaka auf den Herzstoffwechsel unter definierten Bedingungen zu erfassen. Die Methode wurde zum ersten Mal von K.MÜLLER (1964) beschrieben und in der Zwischenzeit weiter verbessert (PETER, 1967; GLOMME, 1968 und SCHNEIDER, 1969).

Es zeigte sich dabei, daß sich damit die Kinetik der Oxydation exogener ^{14}C-markierter Substrate sowie wechselseitige Hemmungsmechanismen sehr gut quantitativ erfassen lassen. So wurde zuletzt von SCHNEIDER (1969) die Michaelis-Menten-Kinetik der Decarboxylierungsrate in Abhängigkeit von der Substratkonzentration für Pyruvat und Lactat mit derjenigen von Glucose und einer kurzkettigen Fettsäure (Na-Hexanoat) verglichen, ebenso wie die gegenseitigen Hemmungsmechanismen dieser Substrate untereinander.

Ferner können mit dieser Methode an stillgestellten Herzvorhöfen direkte Einflüsse stoffwechselwirksamer Agentien auf die Oxydationsrate geprüft werden sowie an schlagenden Herzvorhöfen leistungssteigernde oder leistungssenkende Effekte mit dem Verhalten der jeweiligen Decarboxylierungsrate verglichen werden.

In einer von BING (1967) zusammengestellten Studie über den normalen Herzstoffwechsel verteilen sich die Substrate am Gesamtsauerstoffverbrauch des menschlichen Herzens folgendermaßen:

Kohlenhydrate	%	Nichtkohlenhydrate	%
Glucose	17,9	Fettsäuren	67,0
Pyruvat	0,54	Aminosäuren	5,6
Lactat	16,46	Ketonkörper	4,3
Gesamt:	34,90		76,9

Diese Bevorzugung der Fettsäuren gegenüber Glucose konnte durch die Verschiedenheit der Aufnahmekinetik und durch die Hemmung der Glucoseoxydation, vermutlich am Coenzym A, in früheren Untersuchungen geklärt werden (SIESS und GLOMME, 1968; SIESS, 1969). Daß auch Lactat entsprechend seiner exogenen Konzentration hier eingreift und die Glucoseoxydation herabsetzt, konnte SCHNEIDER (1969) zeigen.

In der vorliegenden Arbeit interessierte einmal, wie sich Aminosäuren, die im menschlichen Organismus anteilmäßig mit etwa 5,6 % am Gesamt-Sauerstoffverbrauch beteiligt sein sollen, verhalten. Außerdem wurde das Verhalten von einer ungeradkettigen Fettsäure Na-Nonanoat (^{14}C-U) sowie das von ^{14}C-Glycerin geprüft.

Im Unterschied zu Glucose, die in der Zelle in freier Form kaum nachweisbar ist und mit einer sehr hohen Außenkonzentration im Plasma vorliegt, sind die freien Aminosäuren im Serum in wesentlich niedrigerer Konzentration vorhanden, während in der Zelle selbst nach den Untersuchungen des Arbeitskreises von WOOL (1965) ein sehr hoher Pool an freien Aminosäuren vorhanden ist. Hier interessierte besonders die in der Herzmuskelzelle in hohen Konzentrationen vorhandene L-Asparagin-, L-Glutaminsäure sowie L-Lysin und L-Glycin.

Als weitere Aufgabe sollte das Verhalten einiger aus der Enzymkinetik bekannten stoffwechselaktiven Stoffe in ihrer Wirkung auf die Decarboxylierungsrate geprüft und im Unterschied dazu Wirkungen durch Leistungssteigerung und Leistungshemmung bekannter herzwirksamer Pharmaka abgegrenzt werden.

II. METHODIK

A. Versuchstiere

Für die durchgeführten Versuche wurden insgesamt 134 männliche Meerschweinchen mit einem Gewicht zwischen 180 und 436 g verwendet.

Zusätzlich zum Trockenfutter der Firma ALTROMIN (Lage/Lippe) wurde den Tieren Grünfutter, Karotten, gegeben, da es nach früheren Beobachtungen für eine gleichmäßige Stoffwechsellage und Kontraktionsleistung der Herzvorhöfe von Bedeutung ist (PETER, 1967, GLOMLE, 1968 und SIESS, 1969).

Die Herzvorhöfe hatten ein mittleres Feuchtgewicht von 81,3 mg, s_m betrug $\pm$ 2,1 mg (n = 134). Der kleinste und größte Wert waren 43 und 143 mg.

Die Tiere wurden jeweils frisch aus dem Stall entnommen, ohne vorherigen Nahrungsentzug sofort getötet und auf ein Präparierbrett aufgespannt.

Nach Eröffnung von Thorax und Bauchhöhle wurden die Lungen an ihren Hili entfernt und nach Eröffnung des Perikards die Kammer nahe der Vorhofkammergrenze abgetragen. Unter größtmöglicher Schonung des Sinusknotens wurden die restlichen Vorhöfe zusammen aus dem Thorax entnommen, in Tyrode von 30°C von Blut freigespült, sowie das restliche Fett und Bindegewebe entfernt. Anschließend wurde das Herzvorhofpräparat in seinem größten diagonalen Durchmesser in die Muskelhalterung aus Plexiglas, wie sie bereits in früheren Arbeiten eingehend beschrieben wurde (MÜLLER, 1964; PETER, 1967; SIESS, MÜLLER, PETER, 1968), eingespannt. Der linke Herzvorhof war dabei am unteren Ende der Halterung, die rechte Herzvorhofspitze wurde von einer Silberfederdrahtklammer (aus Degussa 9000/000/0,1 mm Durchmesser) eingespannt. Das fertige Präparat wurde mit der Halterung für 30 Minuten in eine oxygenierte Tyrodelösung mit 15 mM Glucose in 30°C gebracht, wobei gleichzeitig Reste von Blut und Serum-

anteile vom Interstitium ausgespült und beim Präparieren verlorengegangene Glykogenvorräte wieder restituiert wurden. Das Herzvorhofpräparat schlug dabei unter der Belastung von 5oo mg.

Zeigten sich in der Vorbereitung Rhythmusstörungen, so wurde das Präparat ausgeschieden.

B. Versuchsmaterialien

1. Nährlösung

Als Nährlösung wurde Tyrode hergestellt, sie hatte folgende Zusammensetzung:

NaCl	0,8 %
KCl	0,02 %
$CaCl_2$	0,02 %
$MgCl_2$	0,01 %
$NaHCO_3$	0,1 %
NaH_2PO_4	0,005%

(alle Substanzen der Firma M E R C K p.a.)

2. Herstellung der Nährlösung mit ^{14}C-markierten Substraten

Die ^{14}C-markierten Substrate, die sich in zugeschmolzenen Glasampullen befanden, wurden jeweils mit ihrer Aktivität von 5o, 1oo oder 15o µC in 5o bzw. 1oo ml frischbereitete Tyrodelösung aufgenommen, welcher vorher das jeweilige nichtmarkierte Trägersubstrat in Höhe der gewünschten Molarität und spezifischen Aktivität in µC/µMol zugegeben worden war. Die angesetzten Lösungen wurden durch einen Bakterienfilter (Typ 11 D 5) gezogen, steril in Portionen von 7 ml in sterile Glasröhrchen abgefüllt,

mit Schliffstopfen verschlossen, bei - 20° C eingefroren und gelagert. Bakterielle Verunreinigungen zeigten sich auch nach mehrmonatiger Lagerung weder bei ^{14}C-Glucose, noch bei anderen Substraten. Dagegen zeigte sich bei ^{14}C-Hexanoat eine von der Firma angegebene und bereits früher beobachtete radiochemische Verunreinigung mit $^{14}CO_2$, die etwa 4 % betrug und rechnerisch berücksichtigt wurde. Von anderen Substraten fand sich bei ^{14}C-L-Glutaminat mit 0,1 % und bei ^{14}C-Na-L-Aspartat mit 0,25 % eine zu vernachlässigende Menge von $^{14}CO_2$, die vor Versuchsbeginn quantitativ erfaßt und ausgetrieben wurde.

3. Verwendete Substanzen

D(+)-Glucose	MERCK
g-Strophanthin	"
Glycerin	"
Na-Capronat (Na-Hexanoat)	RIEDEL DE HAEN
Kieselgel	"
Aludrin^{R} (Isoprenalin)	BOEHRINGER, INGELHEIM
Suprarenin^{R} (Adrenalin)	HOECHST
Arterenol^{R} (Noradrenalin)	"
Novocain^{R} (Procain)	"
Urbason^{R}	"
Insulin^{R}	"
L-Glutaminsäure	SERVA ENTWICKLUNGSLABOR HEIDELBERG
L-Asparaginsäure	"
L-Lysin	"
L-Glycin	"
DL-Carnitinchlorid	"
Na-Nonanoat	RADIOCHEMICAL CENTRE AMERSHAM (England)
Epanutin^{R}	PARKE-DAVIS
Xylocain^{R} (Lidocain)	PHARMA-STERN
Dociton^{R}	ICI

Berolase^{R}	HOFFMANN LA ROCHE
Ronicol^{R}	"
Nikotinsäure	"
Thioctacid^{R}	CHEMIEWERK HOMBURG
Persantin^{R}	THOMAE
Glucagon	LILLY
Coramin^{R}	CIBA
D 477 A	TROPON
D-L-Trasicor	DR. WILHELM
Theophyllin (Euphyllin^{R})	BYK-GULDEN
Biotin	MERCK
14 Aspartat-Verbindungen (siehe Text)	HERZ und CO.,FRANKFURT

D-Glucose C^{14}-(U) CFB 2	Batch Nr. 145	
	" 147	
	" 148	
	" 152	
	" 153	RADIOCHEMICAL CENTRE
	" 154	AMERSHAM
Na-Hexanoat-1-C^{14} CFA 118	" 7	
L-Asparaginsäure C^{14}-(U)CFB 9	" 29	(England)
n-Nonanoat C^{14}-(U) CFA 460	" 24	
Glycerin C^{14}-(U) CFA 303	" 10	
L-Glutaminsäure C^{14}-(U) CFB 10	" 60	

Für die Überlassung der Proben von ^{14}C(U)-Nonanoat und inaktivem Nonanoat danken wir der Firma RADIOCHEMICAL CENTRE AMERSHAN (ENGLAND).

Versuchsanordnung

Prinzip der Methode

In einem zwischen Muskelkammer und Oxygenatorkammer rezirkulierenden System von 7 ml Tyrodelösung mit Zusatz ^{14}C-markierter Substrate wird gleichzeitig unter definierter Vorspannung von 500 oder 1 000 mg die Kontraktionsleistung pro Schlag durch die Bewegung einer geeichten Feder zusammen mit der Frequenz registriert. Die Kontraktion wird vom Dehnungsmeßstreifen über eine Meßbrücke von PHILIPS (Modell BR 9302) auf einen Zweifachschreibschreiber "Oszilloscript" (PHILIPS-System-Schwarzer) übertragen. Die Frequenz wird über ein Ratemeter (PHILIPS PW 4042) auf einem zweiten Kanal registriert. Aus der Amplitudenhöhe läßt sich die Kontraktionsarbeit pro Schlag in mm/mg und zusammen mit der Frequenz die Leistung/h berechnen. Das in der Muskelkammer durch Oxydation der ^{14}C-markierten Substrate entstehende $^{14}CO_2$ fließt mit der Nährlösung hydrostatisch direkt in die Oxygenatorkammer ab und wird dort durch das im hohen Gas-Überschuß durchperlende Carbogen($5\%CO_2$) im Gasstrom ausgewaschen und mitgerissen. Nach Trocknung des Gasstromes mit getrocknetem Kieselgel bei 70° C wird in einer Ionisationskammer, welche unter einer Spannung von 90 Volt steht, der bei dem Zerfall von ^{14}C-Atomen entstehende Ionisationsstrom über ein Vibrating-Reed-Electrometer (Firma CARRY, Modell 31) registriert und kontinuierlich auf einen Schreiber "Servogor" (PRAWATT A.G., Nürnberg) übertragen. Über zwei Flowmeter wurde die Dichtigkeit des Systems kontrolliert und bei 45 ml/min (177 Skt auf dem Flowmeter) konstant gehalten.

Die genauen Einzelheiten der Methodik und die Berechnungsgrundlagen sind in den früheren Arbeiten (MÜLLER, 1964; PETER, 1967; MÜLLER, 1968; SCHNEIDER, 1969; GIESS, MÜLLER und PETER, 1968) ausführlich niedergelegt.

2. Änderungen

Die einzige Änderung, die in unseren Versuchen durchgeführt wurde, bestand darin, daß im letzten Drittel der Versuche, nachdem die Mikrokugellager in der Plexiglashalterung stark korrodiert waren, Teflonlager nach einem von Herrn A. OTTO (Feinmechanikerwerkstatt des Instituts) entwickelten System, verbunden mit einem Siliconöllager, eingebaut wurden. Die innere Reibung der Kontraktionsübertragung auf die Blattfeder wurde dadurch wesentlich herabgesetzt und eine gleichbleibende Dichtigkeit des Systems gewährleistet. Die Einzelheiten dieser Verbesserung sind von RANGE (1970) eingehend dargestellt.

D. Quantitative Größen

Auf Grund der gewonnenen Daten liegen folgende berechnete Meßgrößen vor:

1. Kontraktionsleistung des Herzvorhofs

$$E_s = x \cdot \bar{y} + \frac{y \cdot \bar{y}}{2} \quad \text{mm} \cdot \text{mg}$$

x = Vorspannung der Feder (mg)
y = Kontraktionszusatzspannung
$\bar{y}$ = Auslenkung der Feder (mm)

Die Länge zwischen der Fixierung der Feder und dem Aufhängungspunkt des Fadens, auf dem die Kontraktion des Herzvorhofs übertragen wurde, betrug 194 mm. Bei der Belastung von 200 mg senkte sich der Aufhängungspunkt genau um 0,499 mm. Diese Federauslenkung entsprach auf dem Schreiber einer Höhe von 13 mm. 1 cm Ausschlag des Schreibers (y') entspricht damit

$$\frac{200 \cdot 10}{13} = 153{,}8 \text{ mg Kontraktionszusatzspannung } (y) \text{ und}$$

gleichzeitig

$$\frac{10 \cdot 0{,}499}{13} = 0{,}383 \text{ mm realem Weg der Feder } (\bar{y}).$$

Die Kontraktionsarbeit kann hieraus wie folgt berechnet werden:

$$E_s = 0{,}383 \cdot x \cdot y' + y'^2 \cdot \frac{153{,}8 \cdot 0{,}383}{2}$$

und gleichzeitig

$$= 0{,}383 \cdot x \cdot y' + y'^2 \cdot 29{,}45 \text{ mm} \cdot \text{mg}$$

Aus der Kontraktionsarbeit, Frequenz und Zeit ergibt sich die Kontraktionsleistung:

$$E/h = E_s \cdot F \cdot 60 \text{ cm g/h}.$$

1. Exogener Substratverbrauch aus der Decarboxylierungsrate ^{14}C-markierter Substrate

Wie in früheren Arbeiten (GLASS, MÜLLER, PETER, 1968; SCHNEIDER, 1969) bereits beschrieben, entsprachen gemäß der Eichkurve mit Standard $Na_2{}^{14}CO_3$ auf dem "Servogor"-Schreiber 10 cm^2 = 0,75 nC $^{14}CO_2$.

Bei einer Papiergeschwindigkeit von 12 cm/h ergeben sich, daß 2 . 1 cm = 12 cm^2

$$= \frac{10{,}75 \cdot 12}{10} \text{ nC } {}^{14}CO_2/h$$

$$= 12{,}9 \text{ nC } {}^{14}CO_2/h$$

entsprechen.

Nach Integrierung bedeutet also 1 cm Abstand des Schreibers vom Nullpunkt = 12,9 nC $^{14}CO_2$/h.

Einem beliebigen Schreiberabstand x entsprechen:

$$x(cm) \cdot 12{,}9 \text{ nC } {}^{14}CO_2/h.$$

Die Menge des umgesetzten radioaktiven Substrates ergibt sich aus der Gleichung:

$$D = 12{,}9 \text{ (nC/h)} \cdot \text{spez. Akt.}(\mu C/\mu Mol \cdot x(cm)$$

(D = Decarboxylierungsrate in µMol/h pro Vorhof).

Aus D wurde D'berechnet,

$$D' = \frac{D \cdot 100}{F.G.(mg)}$$ und bedeutet D auf 100 mg F.G.

Aus der spezifischen Aktivität der Substrate µC/µMol wurde der Faktor für 1 cm Schreiberausschlag berechnet. Es ergaben sich bei der spezifischen Aktivität von

1 µC : 5 µMol (bei Na-Aspartat und Na-Glutaminat)
= 0,0654
1 µC :7,5 µMol (Glucose)
= 0,0965
1 µC : 10 µMol (Glucose, Glycerin)
= 0,1290
1 µC : 15 µMol (Glucose)
= 0,1935
1 µC : 15 µMol (Hexanoat)
= 0,201 (durch 4 % radiochemische Verunreinigung)

Die Verunreinigung von 0,25 % bei ^{14}C-Na-L-Aspartat und 0,1 % bei ^{14}C-Na-L-Glutaminat wurde vernachlässigt.

Berechnung des Nutzeffektes.

r Nutzeffekt in verschiedenen Medien:

tatsächliche Nutzeffekt, bezogen auf den Sauerstoffverbrauch, n bei dieser Versuchsanordnung bekanntlich nicht berechnet den, da die Decarboxylierungsrate exogener Substrate nicht Anteil endogener Speicher (Glykogen) am Sauerstoffverbrauch erfaßt. Da aber nach allen früheren Untersuchungen die Decboxylierungsrate und Veränderungen derselben nach Einwirkung die Kontraktionsleistung weitgehend parallel zum Sauerstoffbrauch gehen (GEISSLER, 1967; SCHARE, 1968; SCHNEIDER, 1969; LER, 1969), erscheint es erlaubt, die Kontraktionsleistung den Substratverbrauch in Beziehung zu setzen, sofern nicht ch exogene inaktive Substrate im Stoffwechsel die Oxydation des -Substrates kompetitiv gehemmt worden war, z.B. bei ^{14}C-cose nach Zugabe inaktiven Hexanoats oder die Decarboxyrungsrate so niedrig war, daß eine wesentliche energetische eiligung sicher nicht vorlag (Glycerin und Aminosäuren).

die Berechnung des Nutzeffektes wurde jeweils so vorgegangen, der ATP-Gewinn an-pro µMol-oxydierten Substrats berechnet entsprechend den früheren Arbeiten (zuletzt SCHNEIDER, 1969) dem energetischen Wert der Hydrolyse von 1 Mol ATP zu ADP kcal (KARLSON, 1966) sowie dem mechanischen Wärmeäquivalent kcal = 427 mkg, der Energiegewinn in cm/g umgewandelt wurde. Nutzeffekt sagt ausdrücklich nur aus, wieviel Prozent aus Energiegewinn an ATP des exogenen Substrates in die Konktionsleistung eingeht. Die Werte, die dabei gewonnen wur-, sind naturgemäß niedrig, da durch innere Reibung im Druck Flüssigkeitssystems bereits Energieverluste eintreten, zuzlich aber noch in Betracht zu ziehen ist, daß nur die in gsrichtung verlaufenden Fasern Kontraktionsarbeit leisten, querverlaufenden dagegen nicht.

a) Glucose

Aus 1 Mol Glucose entstehen im Stoffwechsel minimal 32 Mol, max. 36 Mol ATP. Wie oben erwähnt, ergibt 1 Mol ATP etwa 7 kcal (KARLSON, 1966). Der Energiegewinn beträgt also:

$$D' = 7 \cdot 42{,}7 \cdot 32 = 9564{,}8 \text{ cm} \cdot g$$
$$D' = 7 \cdot 42{,}7 \cdot 36 = 10760 \text{ cm} \cdot g.$$

b) Hexanoat

1 Mol Hexanoat ergibt 45 Mol ATP und umgerechnet

$$D' = 7 \cdot 42{,}7 \cdot 45 = 13450 \text{ cm} \cdot g.$$

c) Nonanoat

Für Nonanoat errechnet sich folgender Wert:

$$D' = 7 \cdot 42{,}7 \cdot 70 = 20916 \text{ cm} \cdot g.$$

d) Für die Aminosäuren: ^{14}C-Glutaminsäure, ^{14}C-Asparaginsäure sowie für ^{14}C-Glycerin waren die oxydierten Substratanteile so gering, daß hier eine Berechnung nicht sinnvoll erschien.

E. Berechnungsmethoden

Für die statistische Bearbeitung des Zahlenmaterials wurden folgende Berechnungen durchgeführt:

1. Berechnung des arithmetischen Mittelwertes ($\bar{x}$)

$$\bar{x} = \frac{S_x}{N}$$

S_x = Summe der Einzelwerte

N = Anzahl der Einzelwerte

2. Die mittlere Streuung des Mittelwertes wurde aus der Formel

$$s_m^2 = \frac{S_x^2 - S_x \cdot \bar{x}}{N(N-1)}$$

S_x^2 = Summe aus dem Quadrat der Einzelwerte

errechnet.

3. Die Berechnung der Steigung der Regressionsgeraden ($y = a + bx$) erfolgte aus der Formel (THER , 1965):

$$b = \frac{S_{xy} \cdot N - T_{xy}}{S_x^2 \cdot N - T_x^2}$$

b: Steigung der Geraden
S_{xy}: Summe aus den Einzelprodukten von x mit y
T_{xy}: Produkt von S_x und S_y
T_x^2: Quadrat von S_x.

F. Fehlermöglichkeiten

Veränderte Werte konnten bei der Messung

1. der Decarboxylierungsrate,
2. der Kontraktionsamplitude,
3. der Frequenz,

auftreten.

zu 1.

Die Höhe der Decarboxylierungsrate konnte durch 3 Faktoren verändert sein:

a) Erhöhung der $^{14}CO_2$-Produktion durch zusätzlichen bakteriellen Stoffwechsel im System,
b) Veränderung des Gasdurchflusses in der Ionisationskammer,
c) Änderung der Leitfähigkeit durch Luftfeuchtigkeit.

Auf die Ausschaltung dieser Fehlermöglichkeiten wurde in anderen Arbeiten (zuletzt SCHNEIDER, 1969) ausführlich hingewiesen.

ad 2.
Bei einigen Versuchen wurde durch die korrodierten Mikrokugellager erhöhte Reibung an der Plexiglashalterung eine veränderte Kontraktionsamplitude angezeigt. Durch den Einbau der Teflonlager, verbunden mit einem Siliconöllager, wurde dieses Problem, wie oben erwähnt, gelöst.

ad 3.
Bei der Zählung der Frequenz wurden einzelne Schwingungen bei einer geringeren Amplitude als 2 mm auf dem Schreiber nicht mitgezählt. Da die normalen Schwingungen auch jeweils durch ein kurzes Signal angezeigt wurden, wurde die obengenannte Veränderung sofort wahrgenommen und der Fehler durch Zählen der Frequenz mit der Stoppuhr korrigiert.

II. V E R S U C H S E R G E B N I S S E

A. Untersuchung über die Beteiligung exogener Substrate am oxydativen Stoffwechsel des Herzmuskels

Fettsäuren

Die Aufnahme und Oxydation von ^{14}C-(U)-Na-Nonanoat (Abb. 1 u.2)

Nachdem die Aufnahmekinetik der 6 C-Atome enthaltenden Capronsäure (Na-Hexanoat) bereits in früheren Versuchen geprüft worden war, wurde mit einer Fettsäure, die eine ungerade Zahl von ^{14}C-Atomen enthält, Na-Nonanoat, die Aufnahmekinetik am schlagenden Herzvorhof in aufsteigenden Konzentrationen geprüft.

Wie aus Abb. 1 hervorgeht, erhöht sich die Decarboxylierungsrate (geprüft in zwei Versuchen) mit zunehmender Konzentration im Bereich von 0,1 und 0,5 mM entsprechend einer Michaelis-Mentenkinetik. Bei 0,1 mM zeigt sich eine noch deutlich überhöhte Decarboxylierungsrate.

Die Michaelis-Konstante mit 0,18 mM liegt unter der von Na-Hexanoat mit 0,46 mM. Ebenso ist die maximale Umsatzrate V_{max} mit 0,26 µMol/h . 100 mg F.G. von ^{14}C-Na-Nonanoat deutlich gegenüber einem V_{max} mit 1,1 µMol/h . 100 mg F.G. bei ^{14}C-Na-Hexanoat-Inkubation herabgesetzt. Berechnet man den für V_{max} benötigten Sauerstoff, so liegt dieser für ^{14}C-Na-Nonanoat mit 0,3 µMol/h . 100 mg F.G. 60 % unter dem von ^{14}C-Na-Hexanoat mit 0,8 µMol/h . 100 mg F.G., mit anderen Worten: Nonanoat dringt leichter in die Zelle ein als Hexanoat, wird aber in geringerem Maße umgesetzt. Daß dieses nur durch einen stärkeren negativ-inotropen Effekt von Nonanoat bedingt ist, erscheint nicht wahrscheinlich. Wie Abb. 2 zeigt, wird eine Leistungssteigerung von 50 % bei einer Frequenzsteigerung mit 71 % unter Adrenalin nur von einer Oxydationssteigerung von 64 % begleitet, so daß

Michaelis-Menten Kinetik für die Oxydation von ^{14}C-1-n-Na-Nonanoat

(nach Lineweaver-Burk)

$$\frac{1}{V} = \frac{K_m}{V_{max}} \cdot \frac{1}{S} + \frac{1}{V_{max}}$$

K_m = 0.184 mM V_{max} = 0.256 µMol/h u. 100 mg F.G

V = Decarboxylierungsrate von ^{14}C-Nonanoat (µMol/h u 100 mg F.G)

S = Konzentration von Nonanoat (mM)

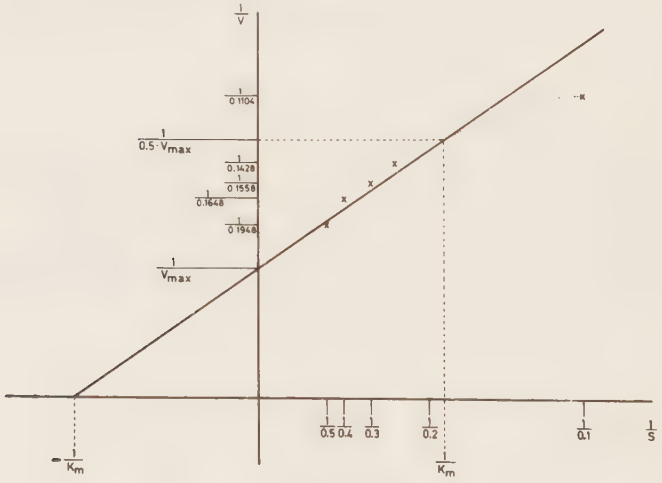


Abb. 1

angenommen werden muß, daß endogene Glykogenvorräte an der Leistungssteigerung hier anteilmäßig beteiligt sind. Es kommt auch mit dem Schwund der Glykogenvorräte zu allmählicher Kontraktur. Der ß-Rezeptorenblocker Trasicor senkt im Bereich von $2{,}5 \cdot 10^{-8}$ g/ml signifikant Frequenz und Kontraktionsamplitude, ohne dabei im gleichen Ausmaß die Decarboxylierungsrate herabzusetzen. Eine verstärkte Kontraktionsleistung durch nachfolgende Strophanthingabe von $2{,}5 \cdot 10^{-7}$ g/ml führt nur zum geringfügigen Mehrverbrauch von ^{14}C-Na-Nonanoat, so daß der Nutzeffekt wieder ansteigt. Der Nutzeffekt des verbrannten exogenen ^{14}C-Nonanoats ist sehr gering, als Folge des negativ-inotropen Effekts. Leistungssteigerung durch Adrenalin erhöht ihn beträchtlich, wie Trasicor ihn senkt (Abb. 2).

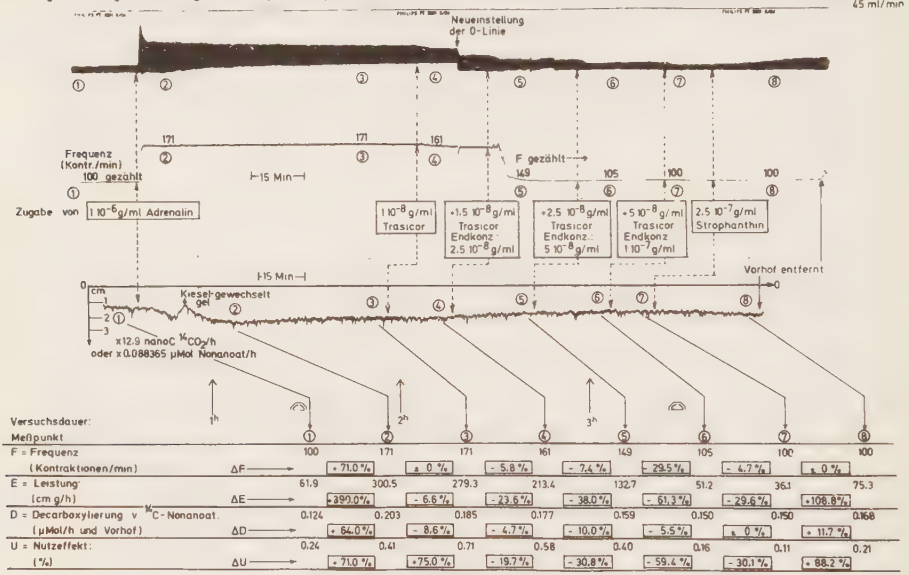
b) Die Beeinflussung der Decarboxylierungsrate von ^{14}C-Glucose mit inaktivem Na-Nonanoat und Hexanoat.

b1. Hemmung der ^{14}C-Glucoseoxydation durch Na-Nonanoat

Nach Einstellung des Gleichgewichtes der Decarboxylierungsrate von ^{14}C-Glucose wurde 0,1 mM inaktives Na-Nonanoat zugegeben. Dieses zeigte ohne Beeinflussung der Frequenz einen negativ-inotropen Effekt, der sich jedoch erst allmählich bemerkbar machte. Gleichzeitig kam es aber zum ausgeprägten Abfall der Decarboxylierungsrate von ^{14}C-Glucose um 25,3 %. Weitere Zugabe von 0,1 mM Na-Nonanoat änderte die Kontraktionsamplitude nur geringfügig, die Frequenz sank von 151/min auf 140/min, also um 7,2 % und die Decarboxylierungsrate um weitere 11,3 %. Erhöhung der Na-Nonanoat-Konzentration bis zu einer Endkonzentration von 1,0 mM senkte die Decarboxylierungsrate trotz starker negativ-inotroper Wirkung nur noch unwesentlich (6,8 %). Die maximale Hemmung der Glucoseoxydation betrug also ~ 40 %. Zu diesem Zeitpunkt ließ sich der Herzmuskel mit Adrenalinzugabe von $1 \cdot 10^{-6}$ g/ml nur kurzfristig zu einer positiv-ino- und -chronotropen Wirkung bringen, wobei es nur zum geringfügigen Anstieg der gehemmten Decarboxylierungsrate kam. Die stärkste

Die Wirkung von Trasicor und Strophanthin bei Inkubation mit ^{14}C-Nonanoat nach Leistungssteigerung durch Adrenalin.

B 22 - Tiergewicht 291 g - Vorhoffeuchtgewicht: 68 mg - Belastung: 500 mg - 7 ml Tyrode + 0.5 mM ^{14}C-Na-Nonanoat (spez Akt 1 µC/6.55 µMol) - Temp. 30° C - 95 % O_2/5 % CO_2 - 45 ml/min



Versuchsdauer:									
Meßpunkt		①	②	③	④	⑤	⑥	⑦	⑧
F = Frequenz (Kontraktionen/min)	ΔF →	100	171	171	161	149	105	100	100
			+ 71.0 %	± 0 %	- 5.8 %	- 7.4 %	- 29.5 %	- 4.7 %	± 0 %
E = Leistung: (cm g/h)	ΔE →	61.9	300.5	279.3	213.4	132.7	51.2	36.1	75.3
			+390.0 %	- 6.6 %	- 23.6 %	- 38.0 %	- 61.3 %	- 29.6 %	+108.8 %
D = Decarboxylierung v ^{14}C-Nonanoat. (µMol/h und Vorhof)	ΔD →	0.124	0.203	0.185	0.177	0.159	0.150	0.150	0.168
			+ 64.0 %	- 8.6 %	- 4.7 %	- 10.0 %	- 5.5 %	± 0 %	+ 11.7 %
U = Nutzeffekt: (%)	ΔU →	0.24	0.41	0.71	0.58	0.40	0.16	0.11	0.21
			+ 71.0 %	+75.0 %	- 19.7 %	- 30.8 %	- 59.4 %	- 30.1 %	+ 88.2 %

Abb. 2

Hemmung der Glucoseoxydation zeigte sich damit im gleichen Konzentrationsbereich von Na-Nonanoat, in dem auch die Michaelis-Menten-Konstante mit ihrer Oxydationsrate liegt.

b2. Hemmung der ^{14}C-Glucoseoxydation durch Zugabe von inaktivem Na-Hexanoat.

In drei Versuchen wurde nach Inkubation von ^{14}C-Glucose nach Einstellung des Decarboxylierungsgleichgewichtes zum Vergleich inaktives Na-hexanoat in der Konzentration von 2 mM bzw. 1 mM zugegeben. Es zeigte sich in allen drei Versuchen eine ausgeprägte negativ-inotrope Wirkung, ohne wesentliche Veränderung der Frequenz (siehe Abb. 14), mit einem Leistungsabfall von etwa 26 % bei 1 mM und 62 % bei 2 mM (Mittelwert) (Versuche B 110, 111 und 112).

Interessant ist, daß hier im Unterschied zu früheren Versuchen (PETER, 1967; GLOMME, 1968) die Decarboxylierungsrate von Glucose bis auf etwa 15 % des Ausgangswertes zurückgedrängt wurde.
Da hier mit "Sommertieren" gearbeitet wurde und bei PETER und GLOMME mit "Wintertieren", muß hier an saisonbedingte Eigentümlichkeiten gedacht werden.

c) Die Decarboxylierungsrate von ^{14}C-Na-hexanoat unter Zugabe von Na-Nonanoat

Gibt man nach Einstellung der Decarboxylierung unter ^{14}C-Na-Hexanoat inaktives Na-Nonanoat hinzu, so zeigt sich im Bereich von 0,1 mM eine geringfügige Erhöhung der Decarboxylierungsrate um etwa 6 %. Frequenz und Kontraktionsamplitude werden nur wenig beeinflußt und sinken durch zunehmende Ermüdung ab. Interessant ist, daß die Decarboxylierungsrate trotzdem kaum verändert wird. Die geringfügige Abnahme läuft parallel zur Abnahme von Frequenz und Kontraktionsamplitude.

Auch hier ist am Ende des Versuchs bei Zugabe von Adrenalin eine kurzfristige Erhöhung der Frequenz und Kontraktionsamplitude

zu beobachten, wobei die Decarboxylierungsrate nur wenig gesteigert wird. Ein Hemmeffekt auf die Hexanoat-Oxydation liegt also nicht vor.

2. Glycerin

a) Versuche mit ^{14}C-Glycerin

^{14}C-Glycerin wurde in einer Außenkonzentration von 10 mM mit der spez. Aktivität von 1 µC/10 µMol Glycerin zugegeben. Es zeigte sich dabei, daß erst ganz allmählich nach etwa drei Stunden ein ganz geringfügiger Anstieg der Decarboxylierungsrate zu verzeichnen war, der mit einem Wert von 0,042 µMol/h . 100 mg F.G. oxydiertem Glycerin etwa 6,3 % des mittleren Glucoseumsatzes entspricht. Zusätzlich war eine negativ-inotrope Wirkung zu beobachten, die sich auch bei Zugabe von Glucose nicht verbesserte. Stimulierung der Kontraktionsleistung mit Adrenalin führte zu einer Steigerung des Glycerinumsatzes um 23 % bei einer Erhöhung der Kontraktionsleistung von 54,5 % und der Frequenz um 30 %. Anschließender Zusatz von Insulin blieb ohne Wirkung auf die Decarboxylierungsrate, während Strophanthin bei gleicher Frequenz und positiv-inotroper Wirkung mit Rückstandskontraktur den Umsatz von Glycerin um 61,7 % auf einen Endwert von 0,0771 µMol/h . 100 mg F.G. erhöhte. Rechnet man diese Werte auf den Anteil am Gesamtsauerstoffverbrauch mit einem Wert von etwa 5 µMol O_2/h . 100 mg F.G. um, so würde dieses einer Beteiligung des Glycerins mit 3 - 5 % am Sauerstoffverbrauch entsprechen. Damit scheidet Glycerin als ein wesentlicher Energielieferant für den Herzmuskel aus.

b) Versuche mit inaktivem Glycerin bei Inkubation mit ^{14}C-Glucose und ^{14}C-Na-Hexanoat

b1. Inkubation mit ^{14}C-Glucose

Gibt man bei Inkubation mit ^{14}C-Glucose inaktives Glycerin zu, so zeigt sich bei einer Konzentration von 1 mM eine leichte Senkung der Frequenz und der Amplitude. Auch die Decarboxylierung nimmt nur allmählich ab. Erst bei einer weiteren Er-

höhung der Glycerinkonzentration bis auf 16 mM zeigt sich, daß die Decarboxylierung um 25 %, die Frequenz um20 % und die Kontraktionsleistung um 70 % herabgesetzt werden. Daher beruht die allmähliche Abnahme der Glucoseoxydation auf dem Leistungsabfall und nicht auf einer Verdrängung durch Glycerin im Stoffwechsel. Nachträgliche Zugabe von Adrenalin steigerte die Leistung um 470 %, die Frequenz um 40 % und die Glucoseoxydation um 72 %. Diese starke Erhöhung der Decarboxylierungsrate von ^{14}C-Glucose läßt darauf schließen, daß hier keine Verschiebung zu endogenen Substraten (Glykogen) bei der Umsatzsteigerung stattfand.

b2. Inkubation mit ^{14}C-Na-Hexanoat

Bei Inkubation eines gutschlagenden Herzvorhofes mit ^{14}C-Na-hexanoat zeigte sich erst nach Zugabe von 4 mM inaktivem Glycerin unter allmählich negativ-inotroper Wirkung eine leichte Senkung der Decarboxylierungsrate. Wichtig erscheint, daß hier zwischen 8 mM und 16 mM Glycerinzugabe keine weitere Veränderung der Kontraktionsamplitude, der Frequenz sowie auch keine Beeinflussung der Decarboxylierungsrate zu sehen war. Man kann danach ausschließen, daß exogenes Glycerin den Hexanoatumsatz im Stoffwechsel inhibiert. Eine anschließende Leistungssteigerung mit Adrenalin führte zur Steigerung der Frequenz um 34 %, der Leistung um 501 % und der Decarboxylierungsrate der Fettsäure um 120 %. Diese starke Zunahme der Decarboxylierungsrate läßt ähnlich wie bei ^{14}C-Glucose vermuten, daß hier keine Verschiebung zu endogenen Substratanteilen (Glykogen) stattfand.

3. Aminosäuren

a) Aspartate

a1. Die Decarboxylierungsrate von Na-^{14}C-U-L-Aspartat und ihre Beeinflussung durch Pharmaka (Abb. 3, Abb. 4)

Die Herzvorhöfe wurden mit 10 mM Na-^{14}C-U-L-Aspartat mit der spezifischen Aktivität von 1 µC/5 µMol inkubiert. Nach etwa

Die Wirkung von Insulin, Glucose und Adrenalin bei Inkubation mit ^{14}C-Na-Aspartat.

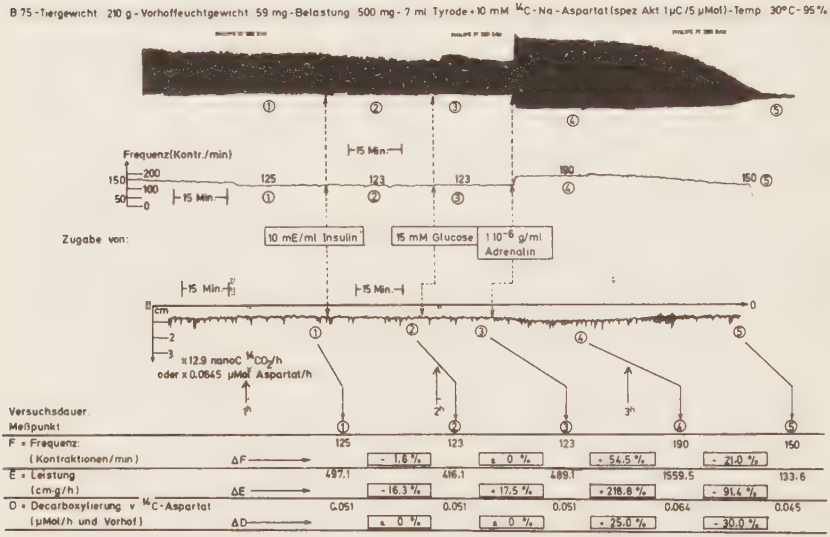


Abb. 3

1 1/2 Stunden war die Decarboxylierungsrate auf ein Gleichgewicht eingestellt. Die verbrannte Menge Aspartat betrug 0,0877 µMol/h . 100 mg F.G. Dies entspricht etwa 13 % der mittleren Decarboxylierungsrate von ^{14}C-Glucose. Berechnet man die mittlere Oxydationsrate von Aspartat und deren Anteil am Gesamt-Sauerstoffverbrauch (5 µMol O_2/h . 100 mg F.G.), so zeigt sich bei dieser Aminosäure eine Beteiligung von ca. 7 % an der Atmung. Zugabe von 10 mE/ml Insulin und nach 30 Minuten von 15 mM Glucose veränderten die Decarboxylierungsrate nicht. (Abb. 3, Mp.1, 2,3)

Nachfolgende Adrenalinzugabe (Mp. 4) steigerte die Frequenz um 54 %, die Leistung um 218,8 % und die Decarboxylierungsrate dagegen nur um 25 %. Ein Zeichen dafür, daß der höhere Energieverbrauch in erster Linie hauptsächlich durch nichtmarkierte Substrate gedeckt wird. Mit Abklingen der Adrenalinwirkung sinkt die Decarboxylierungsrate auf den Ausgangswert zurück.-In Abbildung 4 zeigte sich nach Einstellung des Decarboxylierungsgleichgewichtes mit ^{14}C-Aspartat bei Zugabe von 15 mM Glucose als Energieträger eine unbedeutende Erhöhung der Decarboxylierungsrate von 7 %, die mit der Erhöhung der Kontraktionsleistung von 62 % konform geht. Einwirkung von Insulin zeigte keine Beeinflussung der Decarboxylierungsrate.

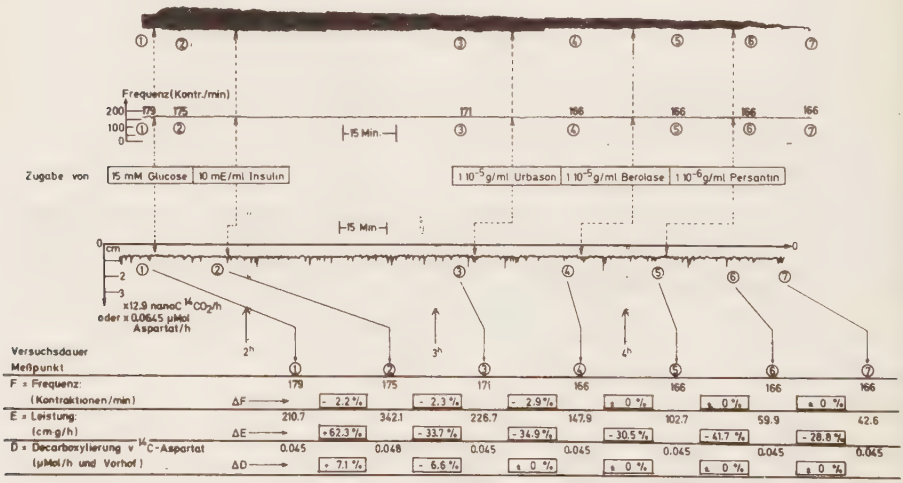
Die weiteren Zugaben von:
Methylprednisolon (Urbason^{R}) 1 . 10^{-5} g/ml
Cocarboxylase = Thiaminpyrophosphat (Berolase^{R}) 1 . 10^{-5} g/ml
Dipyridamol (Persantin^{R}) 1 . 10^{-6} g/ml
α-Liponsäure (Thioctacid) bis zu 2 . 10^{-5} g/ml (nicht mehr abgebildet)
zeigten keine Wirkung auf die Decarboxylierungsrate.

a2. Versuche der Beeinflussung der Decarboxylierungsrate von ^{14}C-Glucose und ^{14}C-Na-Hexanoat mit nichtmarkierten Aspartaten (Tabelle 1)

Folgende Aspartatverbindungen wurden in ihrer Wirkung auf die

Die Wirkung von Glucose, Insulin, Urbason und Persantin bei Inkubation mit ^{14}C-Na-Aspartat

B 74 - Tiergewicht 221 mg - Vorhoffeuchtgewicht 43.5 mg - Belastung 500 mg - 7 ml Tyrode + 10 mM ^{14}C-Na-Aspartat (spez Akt 1 µC/5 µMol) - 95 % O_2/5 % CO_2 - 45 ml/min



Versuchsdauer													
Meßpunkt			①		②		③		④		⑤		⑥		⑦
F = Frequenz:		179		175		171		166		166		166		166
(Kontraktionen/min)	ΔF →		- 2.2 %		- 2.3 %		- 2.9 %		± 0 %		± 0 %		± 0 %	
E = Leistung:		210.7		342.1		226.7		147.9		102.7		59.9		42.6
(cm·g/h)	ΔE →		+ 62.3 %		- 33.7 %		- 34.9 %		- 30.5 %		- 41.7 %		- 28.8 %	
D = Decarboxylierung v ^{14}C-Aspartat		0.045		0.048		0.045		0.045		0.045		0.045		0.045
(µMol/h und Vorhof)	ΔD →		+ 7.1 %		- 6.6 %		± 0 %		± 0 %		± 0 %		± 0 %	

Abb. 4

Kontraktionsamplitude, die Frequenz und die Beeinflussung der Decarboxylierungsrate nach vorheriger Inkubation mit ^{14}C-Glucose und ^{14}C-Na-Hexanoat geprüft.

Asp.	1	=	Kalium-Ornithinacetylaspartat
Asp.	2	=	Magnesium-Ornithinacetylaspartat
Asp.	3	=	Calcium-Ornithinacetylaspartat
Asp.	4	=	Acetylasparaginsäureester
Asp.	5	=	Kaliumaspartat
Asp.	6	=	Natriumaspartat
Asp.	7	=	Calciumaspartat
Asp.	8	=	Magnesiumaspartat
Asp.	11	=	Kaliumacetylaspartat
Asp.	12	=	Magnesiumacetylaspartat
Asp.	13	=	Calciumacetylaspartat
Asp.	14	=	L-Ornithin-L-Aspartat

Für die freundliche Überlassung der Aspartatverbindungen sind wir der Firma M E R Z und Co., Frankfurt, zu Dank verpflichtet.

Die Wirkung dieser Aspartate auf die Frequenz, die Kontraktionsamplitude und auf die Decarboxylierungsrate wurde in der Tabelle 1 zusammengestellt.

Ornithin-Aspartat-Gruppe (Asp. 1,2,3 und 14, Abb. 5)

Am stillgestellten Herzvorhof zeigten diese Verbindungen keine irgendwie nennenswerte Beeinflussung der Decarboxylierungsrate von ^{14}C-Glucose und ^{14}C-Na-Hexanoat (Abb. 5, Kp. 4 und 5). Am schlagenden Herzvorhof zeigte sich mit zunehmender Konzentration, je nachdem, ob Kalium, Magnesium- oder Calciumsalze vorlagen, eine Beeinflussung der Kontraktionsstärke, während die Frequenz nur relativ gering beeinflußt wurde. Es zeigte sich dabei deutlich, daß bei den Kalium- und Magnesiumverbindungen mit zunehmender Konzentration negativ-inotrope Ef-

Inkubation in	Konz.d.zug. Aspartate	$5 \cdot 10^{-6}$ g/ml			$1 \cdot 10^{-5}$ g/ml			$1 \cdot 10^{-4}$ g/ml			$5 \cdot 10^{-4}$ g/ml			$1 \cdot 10^{-3}$ g/ml			KCl Stillstand
		Δ F	Δ E/h	Δ D	Δ F	ΔE/h	ΔD	Δ F	ΔE/h	Δ D	Δ F	ΔE/h	ΔD	Δ F	ΔE/h	ΔD	Δ D
15mM Gluc.	Asp. 1-							0	-6,4	-2,1	-0,6	-91,6	-25,5				-65,9
15mM "	" 2-							0	-42,1	-12,7	-1,8	-95,9	-31,9				-65,9
15mM "	" 3+							0	+6,2	-2,5	-6,6	+13,5	+7,5				-58,7
2mM Hex.	" 4-	0	-8,3	-4,4	+0,6	-15,9	-7,36	0	-61,5	-8,8	-6,6	-76,7	-17,6				-58,7
2mM "	" 5-	-1,5	-10,2	-7,9	-1,5	-11,6	-1,57	-1,5	-17,3	-3,2	+0,7	-42,5	-14,27	-2,98	-54,4	-19,0	
2mM "	" 6-	-0,64	-18,0	-5,87	-1,2	-46,1	-13,7	-4,5	-67,0	-17,6	-10,3	-88,1	-27,4	-15,5	-94,5	-29,4	
15mM Gluc.								+2,6	+9,9	+9,7							
2mM Hex.	" 7+	+14,5	+35,6	+12,12	+17,3	+38,8	+15,5	+18,7	+8,2	+7,5	+6,0	+6,0	+7,31				-53,9
15mM Gluc.	" 8-							-33,3	-70,4	-9,7	-53,4	-88,9	-29,2				-53,9
15mM "																	
2mM Hex.	" 11-							-0,8	-29,9	-8,8	-5,6	-80,56	-26,9				-63,2
15mM Gluc.	" 12-							-4,2	-32,4	-8,0	-10,4	-76,8	-29,1				-63,2
15mM "	" 13+							-0,7	+7,2	-1,2	-24,3	+139,0	+5,34				-63,2
2mM Hex.	" 14-	0	-7,4	-2,12	0	-7,8	-2,17	0	-57,9	-11,6							

Tabelle 1: Die Beeinflussung der Kontraktionsleistung und der Decarboxylierungsrate von ^{14}C-Glucose oder ^{14}C-Hexanoat durch Aspartate.

Zugaben der Aspartate nach KCl-Stillstand zeigten keine Veränderungen der Decarboxylierungsrate.

\+ = positiv ino- oder chronotrope Effekte

\- = negativ ino- oder chronotrope Effekte

Die Wirkung von Calcium-Ornithinacetylaspartat (ASP 3) und Magnesium-Ornithinacetylaspartat (ASP2) bei Inkubation mit ^{14}C-Glucose

B 129-Tiergewicht 320 g - Vorhoffeuchtgewicht. 90 mg - Belastung 500 mg - 7 ml Tyrode + 15 mM ^{14}C-Glucose (1 µC/10 µMol) - Temp 30°C - 95% O_2/5 % CO_2 - 45 ml/ min

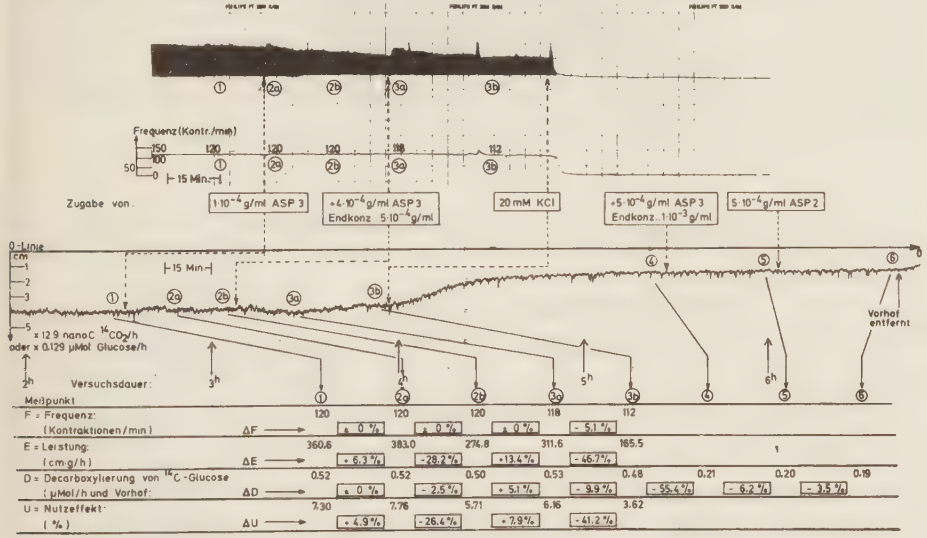


Abb. 5

fekte auftraten, welche besonders im Konzentrationsbereich zwischen $1 \cdot 10^{-4}$ g/ml und $5 \cdot 10^{-4}$ g/ml zu starker Abnahme der Leistung führten. Übereinstimmend ergab sich dabei, daß die Abnahme der Decarboxylierungsrate von ^{14}C-Glucose in jedem Fall wesentlich geringer war als die Abnahme der Gesamtleistung. Andererseits jedoch war sie stärker als der Frequenzabfall. Der Abfall der Decarboxylierungsrate kann in allen Fällen mit der abfallenden Leistung in Beziehung gebracht werden. Eine wesentliche Konkurrenz im Stoffwechsel findet sowohl bei ^{14}C-Glucose als auch bei ^{14}C-Na-Hexanoat, wie sich auch bei Prüfung nach KCl-Stillstand zeigte, nicht statt. Eine positiv-inotrope Wirkung auf Grund des Calciumgehaltes wies Asp. 3 auf (Abb. 5, Mp. 2a/3a). Auch hier folgte die Decarboxylierungsrate der Leistungsänderung.

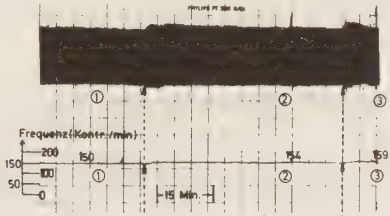
Acetylaspartate und einfache Aspartatsalze (Tabelle 1 und Abb. 6,7 und 8)

Die übrigen Acetylaspartate und einfachen Aspartatsalze (Asp. 4 bis Asp. 12)können zusammen besprochen werden. Von dieser Gruppe zeigten Asp. 7 (Abb. 6) und Asp. 13 als Calciumsalze eine deutlich positiv-inotrope Wirkung. Während die Frequenz bei Asp. 13 negativ beeinflußt wird, tritt bei Asp. 7 eine positiv-ino- und -chronotrope Wirkung auf. Die Decarboxylierungsrate stieg bei Asp. 13 nur geringfügig an. Die starke prozentuale Erhöhung der Leistung bei Asp. 13 ist durch eine sehr niedrige Ausgangsamplitude bedingt, so daß die positiv-inotrope Wirkung sehr deutlich wurde.

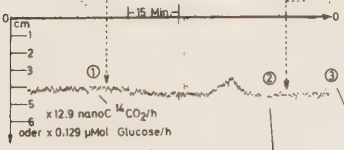
Die übrigen Präparate zeigten im Konzentrationsbereich von $1 \cdot 10^{-4}$ g/ml bis $5 \cdot 10^{-4}$ g/ml ausgeprägt negativ-inotrope Effekte, vor allem Asp. 4 (Abb. 7), Asp. 6, Asp. 8 (Abb. 8), Asp. 11 und Asp. 12. Besonders ausgeprägt negativ-chronotrope Effekte zeigte Asp. 8 (Abb. 8) mit 53,4 % Frequenzabfall bei der Konzentration von $5 \cdot 10^{-4}$ g/ml. Die Decarboxylierungsrate nahm in allen Fällen mit negativer Leistungsbeeinflussung nicht

Die Wirkung von Calciumaspartat (ASP 7) bei Inkubation mit ^{14}C-Glucose

B 125/1 - Tiergewicht: 320 g - Vorhoffeuchtgewicht: 95 mg - Belastung: 500 mg - 7 ml Tyrode + 15 mM ^{14}C-Glucose (spec. Akt. 1 µC/10 µMol) - Temp.: 30° C - 95 % O_2/5 % CO_2 - 45 ml/min



Zugabe von: $1 \cdot 10^{-4}$ g/ml ASP 7 | $+4 \cdot 10^{-4}$ g/ml ASP 7, Endkonz: $5 \cdot 10^{-4}$ g/ml



Versuchsdauer:		2 h	①	3 h	②	③
Meßpunkt:						
F = Frequenz:			150		154	159
(Kontraktionen/min)	ΔF →		+ 2.6 %		+ 3.2 %	
E = Leistung:			833.1		916.2	883.1
(cm·g/h)	ΔE →		+ 9.9 %		- 3.6 %	
D = Decarboxylierung von ^{14}C-Glucose:			0.53		0.58	0.57
(µMol/h und Vorhof)	ΔD →		+ 9.4 %		- 1.8 %	
U = Nutzeffekt:			16.4		16.5	16.2
(%)	ΔU →		+ 0.2 %		- 1.5 %	

Abb. 6

Die Wirkung von Acetylasparaginsäureester (ASP 4) bei Inkubation mit ^{14}C-Hexanoat

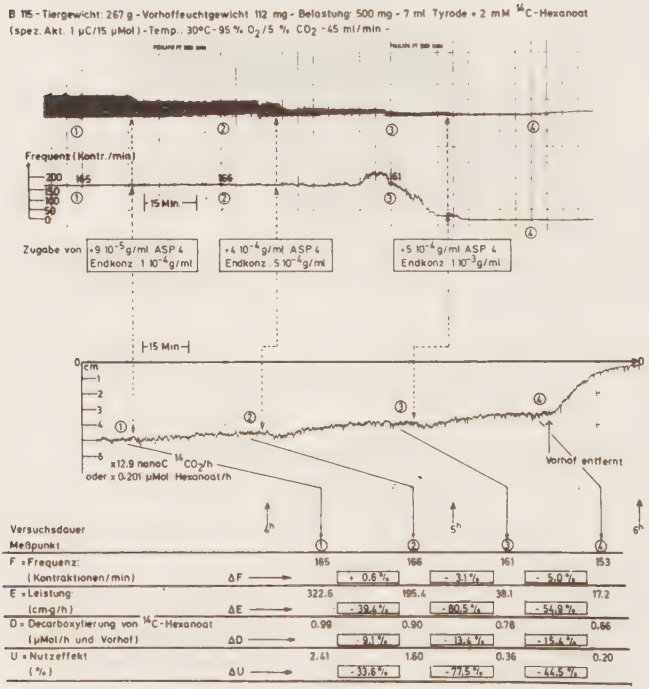


Abb. 7

Die Wirkung von Magnesiumasportat (ASP 8) bei Inkubation mit ^{14}C-Glucose

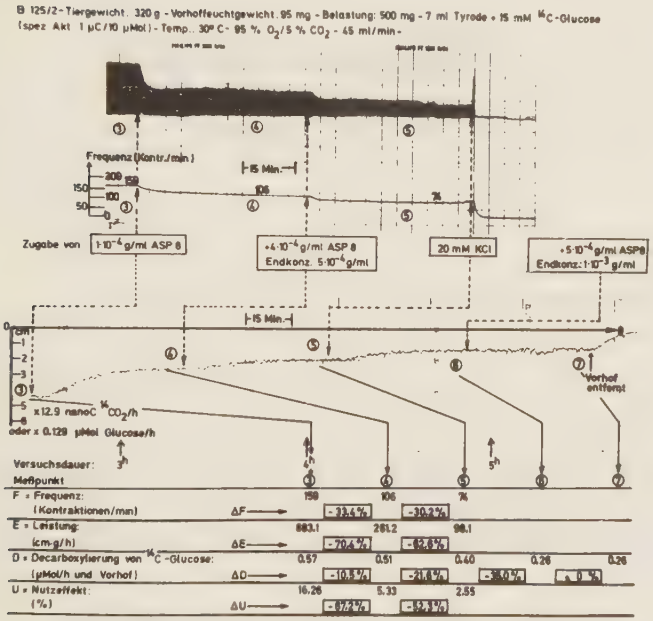


Abb. 8

stärker ab als die Leistung, so daß aus diesen Versuchen kein Schluß auf eine Hemmung der ^{14}C - Substrat - Decarboxylierung durch die Aminosäuren gezogen werden kann. Darüberhinaus zeigte sich, daß nach anschließendem KCl-Stillstand der Ruhestoffwechsel von ^{14}C-Glucose und ^{14}C-Na-Hexanoat immer im Bereich des Normalen, d.h. in gleicher Höhe wie ohne vorherige Zugabe von Aspartat, lag. Zugaben der Aspartate nach KCl-Stillstand und Einstellung auf den Ruhestoffwechsel zeigten auch bei hohen Konzentrationen keine signifikante Veränderung.

Bei der mit ^{14}C-Na-Aspartat gewonnenen niedrigen Umsatzrate und dem niedrigen Anteil am Gesamt-Sauerstoffverbrauch ist eine nennenswerte Beeinflussung auch nicht zu erwarten. Wichtig erscheint, daß mit Ausnahme der Calciumaspartate alle anderen, vor allem Kalium- und Magnesium-Kombinationen negativ-ino- und -chronotrope Effekte aufweisen.

b) Na-Glutaminat

b1. Versuche mit Na-^{14}C-U-L-Glutaminat (Abb. 9)

Inkubiert man Herzvorhöfe mit 10 mM Glutaminat mit der spez. Aktivität von 1 µC/5 µMol, so kommt es sehr rasch zu einem Anstieg der Decarboxylierungsrate. Der Wert von 0,004 µMol/h . 100 mg F.G. entspricht etwa 10 % vom mittleren Glucoseumsatz und macht etwa 6 % des Gesamtsauerstoffverbrauches aus. Eine Beeinflussung der Decarboxylierungsrate der Aminosäuren durch Glucose, durch Wachstumshormon (STH) bis zu 30 mE/ml oder durch Insulin (10 mE/ml) war nicht möglich. Unter Strophanthin ($2{,}5 \cdot 10^{-7}$ g/ml) trat, parallel zur positiv-inotropen Wirkung, eine geringe Erhöhung der Decarboxylierungsrate ein.

Gab man einem in substratfreier Lösung schlagenden Herzvorhof in der Konzentration von 10 mM ^{14}C-Na-Glutaminat (1 µC/5 µMol), so zeigte sich eine etwa 5 - 10 Minuten anhaltende starke positiv-ino- und -chronotrope Wirkung, wobei offensichtlich eine verstärkte Aufnahme und Oxydation von Glutaminat stattfand (Abb. 9). Nach 15 Minuten kam es zu einem Maximum der Decarboxy-

Steady state der Decarboxylierungsrate und Wirkung auf die Kontraktionsleistung nach Zugabe von ^{14}C-Na-Glutaminat und das Verhalten der Leistungssteigerung durch Adrenalin.

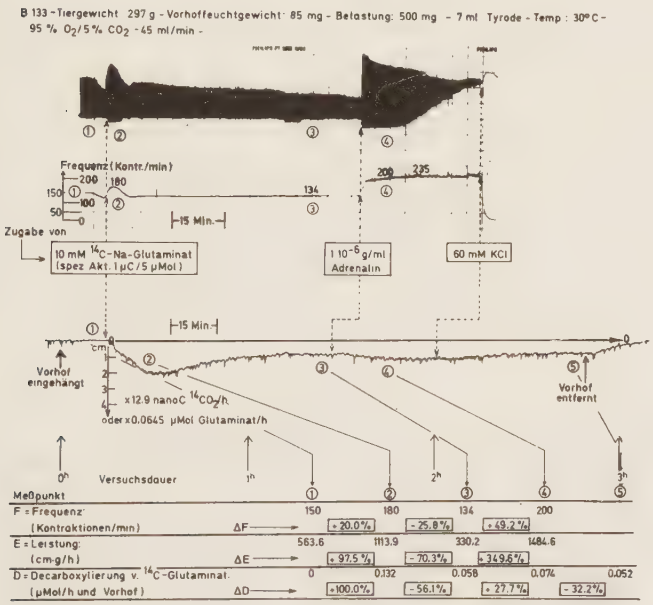


Abb. 9

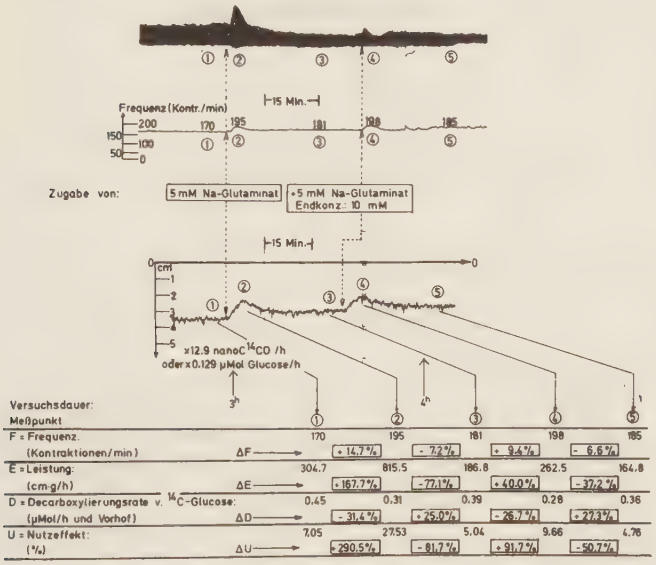
lierungsrate, die vorübergehend bis zu 0,1320 µMol/h . 100 mg F.G. anstieg, was etwa 20 % der mittleren Glucoseumsatzrate und 14 % Anteil am O_2-Verbrauch entspricht. Mit dem Abklingen der positiv-inotropen Wirkung stellte sich die Decarboxylierungsrate auf ein Gleichgewicht ein und lag mit 0,058 µmol/h . 100 mg F.G. wieder in der Höhe, wie es bei anderen Versuchen gemessen wurde. Interessant ist, daß Adrenalinzusatz trotz starker Erhöhung der Frequenz um 50 % und einer Leistungssteigerung von 349 % die Decarboxylierungsrate von ^{14}C-Na-L-Glutaminat nur um 27,7 % erhöhte. Zu diesem Zeitpunkt stand offensichtlich nicht mehr genügend Energie aus der Glykolyse zur Verfügung und so kam es nach 30 Minuten zur Systolisierung. Auf KCl-Stillstand (60 mM KCl) folgte die Lösung der Kontraktur, wobei die Decarboxylierungsrate um 27 % abnahm und auf den Ausgangswert des schlagenden Herzvorhofes zurückkehrte. Dies zeigt, daß ^{14}C-Na-L-Glutaminat nicht in der Lage ist, die durch Adrenalin bedingte Leistungssteigerung energetisch zu decken. Die auffallend rasche Systolisierung läßt daran denken, daß Glutaminsäure in hoher Konzentration eine Hemmung der Glykogenolyse bewirkt.

b2. Beeinflussung der Decarboxylierungsrate von ^{14}C-Glucose und ^{14}C-Na-Hexanoat bei Zusatz inaktiven Na-Glutaminats (Abb. 10) und 11)

Übereinstimmend zeigte sich sowohl bei Inkubation mit ^{14}C-Glucose (Abb. 10) als auch mit ^{14}C-Na-Hexanoat (Abb. 11), daß Zusatz von 5 mM Na-L-Glutaminat zu einer kurzfristigen und starken positiv-ino- und -chronotropen Wirkung führte, die interessanterweise nur für die Zeitdauer dieser Wirkung eine Senkung der Decarboxylierungsrate hervorrief, so daß hier zweifellos eine echte Hemmung sowohl der ^{14}C-Glucose- als auch der ^{14}C-Na-Hexanoat-Oxydation vorlag. Besonders interessant erscheint hier der Befund, daß während dieser verstärkten Herzvorhofleistung ^{14}C-Na-Glutaminat auch verstärkt umgesetzt wird (Abb. 9). Eine weitere Zugabe von Na-Glutaminat (Abb. 10 und 11) hat eine wesentlich schwächere Wirkung auf die Kontraktionsamplitude

Die Wirkung von Na-Glutaminat bei Inkubation mit ^{14}C-Glucose

B 90 - Tiergewicht: 227 g - Vorhoffeuchtgewicht: 64 mg - Belastung: 500 mg - 7 ml Tyrode + 15 mM ^{14}C-Glucose (spez. Akt. 1 µC/10 µMol) - Temp.: 30°C - 95 % O_2/5 % CO_2 - 45 ml/min)

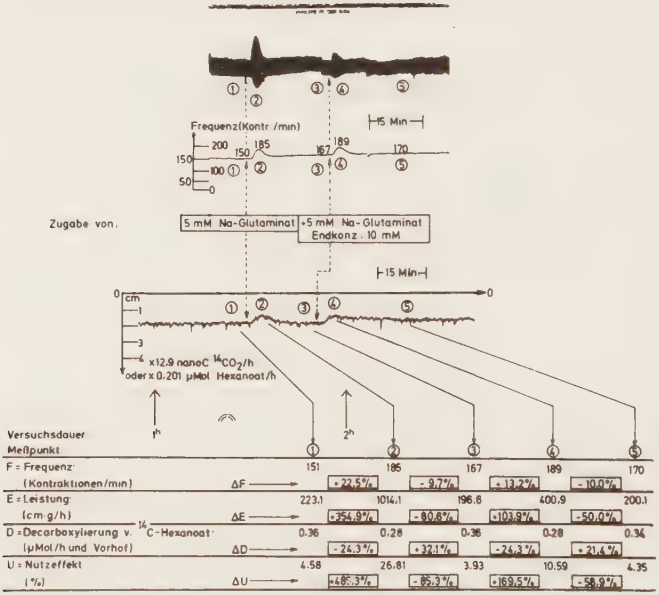


Versuchsdauer: Meßpunkt		①	②	③	④	⑤
F = Frequenz: (Kontraktionen/min)		170	195	181	198	185
	ΔF →		+ 14.7 %	- 7.2 %	+ 9.4 %	- 6.6 %
E = Leistung: (cm·g/h)		304.7	815.5	186.8	262.5	164.8
	ΔE →		+ 167.7 %	- 77.1 %	+ 40.0 %	- 37.2 %
D = Decarboxylierungsrate v. ^{14}C-Glucose: (µMol/h und Vorhof)		0.45	0.31	0.39	0.28	0.36
	ΔD →		- 31.4 %	+ 25.0 %	- 28.7 %	+ 27.3 %
U = Nutzeffekt: (%)		7.05	27.53	5.04	9.66	4.76
	ΔU →		+ 290.5 %	- 81.7 %	+ 91.7 %	- 50.7 %

Abb. 10

Die Wirkung von Na-Glutaminat bei Inkubation mit ^{14}C-Hexanoat.

B 92 - Tiergewicht 267 g - Vorhoffeuchtgewicht: 47 mg - Belastung: 500 mg - 7 ml Tyrode + 2mM ^{14}C-Hexanoat (spez Akt 1 µC/15 µMol) - Temp 30° C - 95 % O_2/5 % CO_2 - 45 ml/min



Versuchsdauer / Meßpunkt		①		②		③		④		⑤
F = Frequenz (Kontraktionen/min)		151		185		167		189		170
	ΔF →		+22.5%		- 9.7%		+13.2%		-10.0%	
E = Leistung (cm·g/h)		223.1		1014.1		196.8		400.9		200.1
	ΔE →		+354.9%		-80.6%		+103.9%		-50.0%	
D = Decarboxylierung v. ^{14}C-Hexanoat (µMol/h und Vorhof)		0.36		0.28		0.36		0.28		0.34
	ΔD →		- 24.3%		+32.1%		- 24.3%		+21.4%	
U = Nutzeffekt (%)		4.58		26.81		3.93		10.59		4.35
	ΔU →		+485.3%		- 85.3%		+169.5%		- 58.9%	

und Frequenz. Trotzdem kommt es auch hier parallel zur Erhöhung der Kontraktionsamplitude und Frequenz zu einer weiteren Senkung der Decarboxylierungsrate. Besonders deutlich ist dies bei der ^{14}C-Glucoseoxydation zu beobachten, die auch in ihrem Gesamtumsatz stufenweise gehemmt wird. Dies dürfte allerdings zum Teil auf die zunehmend negativ-inotrope Wirkung zurückzuführen sein. Bei einem Versuch unter Inkubation mit ^{14}C-Glucose wurde nach Vorgabe von insgesamt 15 mM inaktivem Na-Glutaminat eine Leistungssteigerung mit 1 . 10^{-6} g/ml Adrenalin durchgeführt. Dabei zeigte sich unter starker Frequenzzunahme und positiv-inotroper Wirkung eine zunehmende Systolisierung. Hierbei stieg die Decarboxylierungsrate von ^{14}C-Glucose nur geringfügig an. Es trat also ein echter Energiemangel ein.

c) Versuche mit Na-Glycinat und Na-Lysinat bei Inkubation mit ^{14}C-Glucose oder ^{14}C-Na-Hexanoat

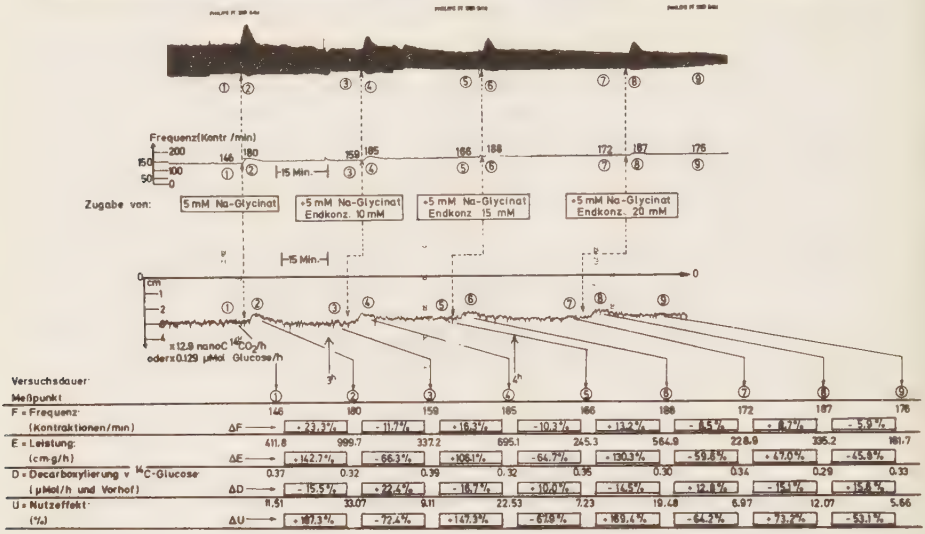
c1. Inkubation mit ^{14}C-Glucose (Abb. 12 und 13)

Wie die Versuche mit inaktivem Na-Glycinat und Na-Lysinat zeigten, kommt die vorübergehend positiv-ino- und -chronotrope Wirkung bei diesen Aminosäuren in gleicher Weise zum Ausdruck, wie wir es bei Glutaminsäure gesehen haben. Im Konzentrationsbereich von 5 mM kommt es zu wiederholbaren kurzen Wirkungen, die mit einer kurzfristigen Hemmung der Oxydation von ^{14}C-Glucose verbunden sind und damit eine Verbesserung des Nutzeffektes der exogenen Glucoseoxydation vortäuschen (Abb. 12, Mp. 1-8).
Bei Zugabe von 5 mM Na-Lysinat wird am stillgestellten Herzvorhof (Abb. 13) ebenfalls eine geringfügige vorübergehende Senkung der Decarboxylierungsrate beobachtet. Nach dieser kurzen Senkung erhöht sich die Glucose-Oxydation wieder auf den Ausgangswert des Ruhestoffwechsels und dieser Wert bleibt auch bei hohen Konzentrationen erhalten (Abb. 12, Mp. 6-8).

Auf Strophanthinzusatz ist in diesem Versuch wieder die bekannte Steigerung der Decarboxylierungsrate von Glucose festzustellen (SIMS und GLOMSET, 1968), wobei keinerlei Fibrillationen am Herzvorhof zu beobachten sind.

Die Wirkung von Na-Glycinat bei Inkubation mit ^{14}C-Glucose

B 77 - Tiergewicht 203 g - Vorhoffeuchtgewicht 76 mg - Belastung 500 mg - 7 ml Tyrode + 15 mM ^{14}C-Glucose (spez Akt 1 µC/10 µMol) - Temp 30°C - 95% O_2/5% CO_2 - 45 ml/min

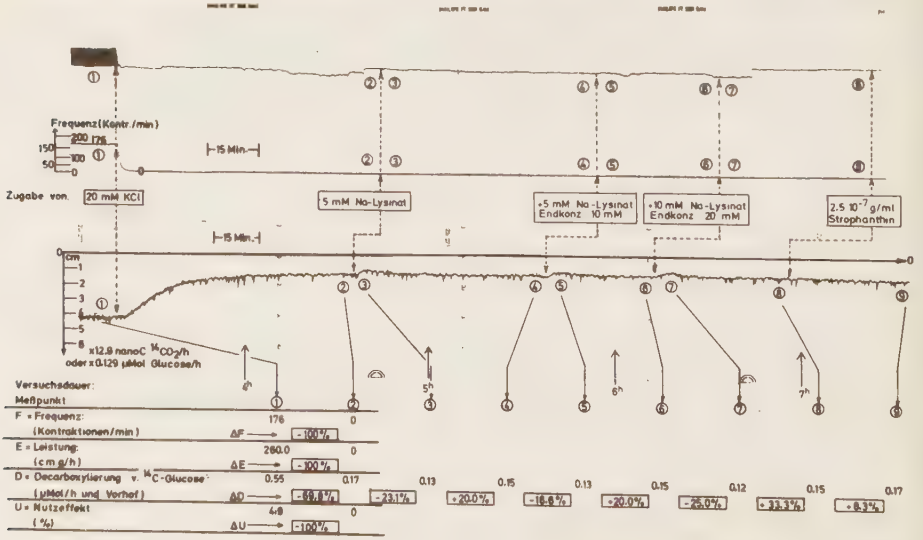


Versuchsdauer									
Meßpunkt	①	②	③	④	⑤	⑥	⑦	⑧	⑨
F = Frequenz:	146	180	159	185	166	188	172	187	176
(Kontraktionen/min) ΔF →	- 23.3%	- 11.7%	+ 16.3%	- 10.3%	+ 13.2%	- 8.5%	+ 8.7%	- 5.9%	
E = Leistung:	411.8	999.7	337.2	695.1	245.3	564.9	228.9	395.2	181.7
(cm·g/h) ΔE →	+ 142.7%	- 66.3%	+ 106.1%	- 64.7%	+ 130.3%	- 59.8%	+ 47.0%	- 45.8%	
D = Decarboxylierung v. ^{14}C-Glucose	0.37	0.32	0.39	0.32	0.35	0.30	0.34	0.29	0.33
(µMol/h und Vorhof) ΔD →	- 15.5%	+ 22.4%	- 18.7%	+ 10.0%	- 14.5%	+ 12.8%	- 15.1%	+ 15.4%	
U = Nutzeffekt:	11.51	33.07	9.11	22.53	7.23	19.48	6.97	12.07	5.66
(‰) ΔU →	+ 187.3%	- 72.4%	+ 147.3%	- 67.8%	+ 169.4%	- 64.2%	+ 73.2%	- 53.1%	

Abb. 12

Die Wirkung von Na-Lysinat nach Inkubation mit ^{14}C-Glucose am stillgestellten Herzvorhof

B 79 - Tiergewicht 277 g - Vorhoffeuchtgewicht 66 mg - Belastung 500 mg - 7 ml Tyrode + 15 mM ^{14}C-Glucose (spez Akt 1 µC/10 µMol) - Temp 30°C - 95% O_2/5% CO_2 - 45 ml/min



Versuchsdauer										
Meßpunkt	①	②	③	④	⑤	⑥	⑦	⑧	⑨	
F = Frequenz:	176	0								
(Kontraktionen/min) ΔF →	- 100%									
E = Leistung:	260.0	0								
(cm·g/h) ΔE →	- 100%									
D = Decarboxylierung v. ^{14}C-Glucose:	0.55	0.17	0.13	0.15	0.13	0.15	0.12	0.15	0.17	
(µMol/h und Vorhof) ΔD →	- 69.1%	- 23.1%	+ 20.0%	- 16.6%	+ 20.0%	- 25.0%	+ 33.3%	- 8.3%		
U = Nutzeffekt	4.8	0								
(‰) ΔU →	- 100%									

c2. Inkubation mit ^{14}C-Na-Hexanoat

Bei Inkubation mit ^{14}C-Na-Hexanoat ist die kurzfristige Hemmwirkung dieser Aminosäuren auf die Decarboxylierungsrate etwas geringer als bei Inkubation mit ^{14}C-Glucose, aber sowohl bei Na-Lysinat als auch bei Na-Glycinat in gleicher Weise vorhanden. Bei allen schlagenden Präparaten ist eine fortschreitende Zurückdrängung der Decarboxylierungsrate von ^{14}C-Na-Hexanoat aber nicht mehr sicher auf eine direkte Inhibierung im Stoffwechsel zurückzuführen: sie geht parallel mit dem allmählichen Leistungsabfall. Ob diese primär oder sekundär, ist kann aus diesen Versuchen nicht entschieden werden. Versuche mit radioaktivem Na-Lysinat und Na-Glycinat wurden nicht durchgeführt, doch auf Grund der ähnlichen Wirkungen, wie bei Na-Glutaminat beobachtet, ist anzunehmen, daß auch diese Aminosäuren in ähnlichem Verhältnis umgesetzt werden und daß sie für eine ausreichende Energieversorgung in hohen Konzentrationen nicht ausreichen.

B. Prüfung der Beeinflussung der Decarboxylierungsrate von ^{14}C-Glucose, ^{14}C-Na-Hexanoat und ^{14}C-Na-L-Aspartat durch verschiedene Agentien.

Aus der Tabelle 2 wird ersichtlich, welche Substanzen zur Prüfung herangezogen wurden.

Agentien	N	Konz.Bereich	F	E_s	E_h	E_h n.Ad. od.Glykoside	Decarboxylierung ^{14}C-Hex.	^{14}C-Gluc.	^{14}C-Asp.
1.Nikotinsäure u.Derivate a)Nikotinsäure 5-10 mM	2	5-10 mM	(-8%	-	- (-24 %) b.10 mM	+	-	- (-0,6%)	-
b)Pyridyl-Carbinol =Nikotinyl-alkohol (Ronicol^R) 2-5 mM	3	2- 5 mM	-	-	- b. 5 mM↓	+		-	
c) Diaethyl/ -Nikotinamid =Nicethamid (Coramin)	5	1- 5 mM	--	+	+	+		+ (schwach)	
2.Carnitinchlorid	4	1.10^{-5} - -1.10^{-4} g/ml	-	-	-		0	+ (schwach)	0
3.α-Liponsäure (Thioctacid)	4	1.10^{-5} g/ml	0	0	0		0	0	0
4.Cocarboxylase (Thiaminpyrophosphatchlorid)Berolase^R	4	2.10^{-5} g/ml	0	0	0		0	0	0
5.5-(2-Oxo-hexahydro-1H-thieno(3,4-d) imidazolyl(4))Valeriansäure = Biotin	3	2.10^{-5} g/ml	0	0	0		0	0	0
6.Insulin	21	1-10mE/ml	0	0 (schwach) (-)	0		0	0 bis + max. 57 %(B 56)	0

↓ = Stillstand 0 = Keine Wirkung

+ = positiv ino- oder chronotrope Effekte
- = negativ ino- oder chronotrope Effekte

(bei Adrenalin volle Wirkung trotz Vorgabe der Substanz.)

Tabelle 2

1. Nikotinsäure und Derivate

a) Nikotinsäure

Nikotinsäure selbst wies in zwei Versuchen bei Konzentrationen von 5 bis 10 mM nur eine geringfügige negativ-ino- und -chronotrope Wirkung auf. Im Bereich von 10 mM betrug die Leistungsminderung etwa 17 % (N = 2), die durch Adrenalin jederzeit aufhebbar war. Die Decarboxylierungsrate von ^{14}C-Glucose und ^{14}C-Na-Hexanoat wurde dabei nur wenig gesenkt und als Folge der verminderten Leistung gedeutet.

b) Pyridyl-Carbinol

Pyridyl-Carbinol = Nikotinylalkohol (Ronicol^{R}) hatte bereits bei 2 mM eine deutlich negativ-ino- und -chronotrope Wirkung. Bei Zugabe von 5 mM kam es zum Stillstand, der durch Zugabe von Adrenalin zu durchbrechen war. Interessanterweise entsprach die Senkung der Decarboxylierungsrate von ^{14}C-Glucose nicht den entsprechenden Werten, die bei KCl-Stillstand gefunden wurden, sondern war wesentlich geringer. Möglicherweise waren hierfür Mikrofibrillationen verantwortlich (Versuch: 88,89,96).

c) Diaethyl-Nikotinamid = Nicethamid (Coramin^{R}), Abb. 14

Im Unterschied zu den genannten Substanzen hatte Nicethamid eine ausgesprochen positiv-inotrope Wirkung, die von einer schwach-negativ-chronotropen Wirkung begleitet wurde. Sie trat erst im Konzentrationsbereich von $1 \cdot 10^{-3}$ g/ml auf, im Bereich von $5 \cdot 10^{-6}$ g/ml und $5 \cdot 10^{-5}$ g/ml wurde keine Wirkung beobachtet (Versuch: 108 - 113).

Es besteht die Möglichkeit, die Beeinflussung von Pharmaka auf den ^{14}C-Glucose- und ^{14}C-Na-Hexanoat-Umsatz gleichzeitig zu prüfen, indem man zuerst das Decarboxylierungsgleichgewicht unter Inkubation mit ^{14}C-Glucose abwartet und durch anschließende Zugabe inaktiven Hexanoats (1 mM bzw. 2 mM) die ^{14}C-Glucose-Decarboxylierung zurückdrängt. Gibt man nun nach Einstellung des neuen Gleichgewichtes Agentien zu, so kann bei einer Leistungssteigerung aus der neuen Decarboxylierungsrate festgestellt werden, ob die durch inaktives Hexanoat gehemmte ^{14}C-

Hemmung der ^{14}C-Glucose-Oxydation mit Hexanoat und die Wirkung von Coramin, Alupent, Trasicor und DL-Carnitinchlorid

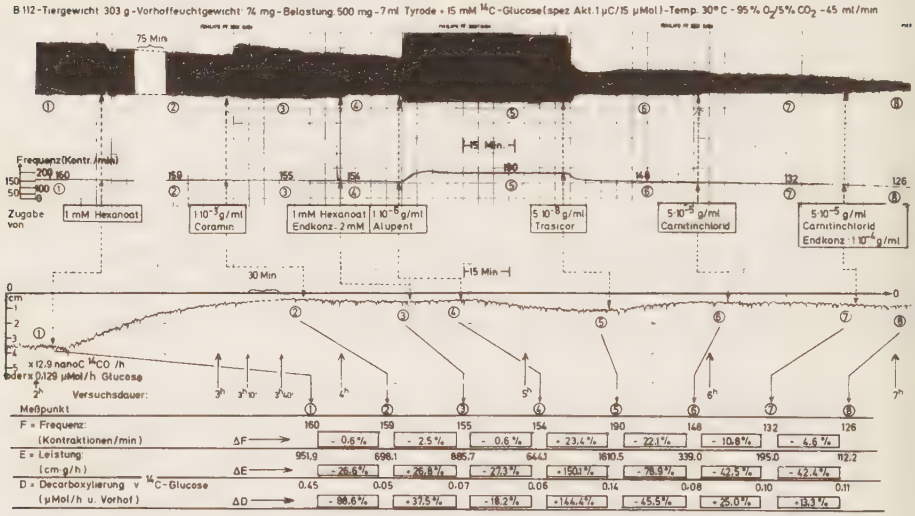


Abb. 14

Glucose-Oxydation positiv oder negativ beeinflußt wird. Anschließend an die Zugabe von Hexanoat zeigte Coramin ($1 \cdot 10^{-3}$ g/ml) entsprechend der positiv-inotropen Wirkung eine deutliche Zunahme der Decarboxylierungsrate, die bei der Hemmung der Glucose-Oxydation durch Hexanoat (1 mM) prozentual besonders hervortritt (Abb. 14).

Zugabe von Alupent ($1 \cdot 10^{-6}$ g/ml) erhöhte infolge der starken positiv-ino- und -chronotropen Wirkung die durch Hexanoat gehemmte Decarboxylierungsrate von Glucose sehr stark. Nach Gabe des ß-Rezeptorenblockers Trasicor ($5 \cdot 10^{-8}$ g/ml) kam es mit Abfallen von Leistung und Frequenz auch wieder zum Absinken der Glucose-Oxydation.

In einem weiteren Versuch wurde nach Hemmung der ^{14}C-Glucose-Oxydation durch inaktives Hexanoat (2 mM), Alupent ($1 \cdot 10^{-6}$ g/ml) gegeben, das entsprechend der Leistungssteigerung zum Anstieg der Decarboxylierungsrate führte. Nachträgliche Zugabe von Coramin ($5 \cdot 10^{-6}$ g/ml) führte unter deutlich negativ-chronotroper Wirkung nur zu einer geringen Senkung der Decarboxylierungsrate.

Wenn in diesen Versuchen Leistungs- und Frequenzänderungen nicht mit einer entsprechenden Änderung der gehemmten ^{14}C-Glucose-Oxydation einhergeht, kann hieraus allerdings nicht quantitativ auf eine Bevorzugung des Fett- oder Glucoseumsatzes geschlossen werden, da endogene Substratanteile nicht miterfaßt werden.

2. Carnitinchlorid (Abb. 14)

Carnitinchlorid führte in dem Versuch B 112 (Abb. 14, Mp. 7 und 8) im Konzentrationsbereich von $1 \cdot 10^{-4}$ g/ml trotz negativ-ino- und chronotroper Wirkung zu einer deutlichen Erhöhung des ^{14}C-Glucoseumsatzes (25 % der gehemmten Glucose-Oxydation). Die Fettsäure-Oxydation wird also zugunsten der Glucose etwas verschoben, sofern der Gesamt-Stoffwechsel nicht erhöht wird.

Andere Substanzen, wie:

3. α - Liponsäure (= Thioctacid)
4. Cocarboxylase (= Thiaminpyrophosphatchlorid = Berolase)
5. 5-(2-Oxo-hexahydro-1H-thieno(3,4-d)imidazolyl-(4)-valeriansäure = Biotin

zeigten weder auf Funktion, noch auf die Decarboxylierngsrate exogener Substrate (^{14}C-Glucose, ^{14}C-Na-Hexanoat, ^{14}C-Na-Aspartat) eine Wirkung.

6. Insulin

Insulin, das bekanntlich den Eintritt von Glucose in die Zelle fördert und nach Untersuchungen von JÄGER (unveröffentlicht) und von DAHLHEIER (1970) die Einbaurate von ^{14}C-Glucose im Glykogen erhöht, zeigte auf die Decarboxylierungsrate keine einheitliche Wirkung. Wenn Herzvorhöfe durch Inkubation mit 15 mM inaktiver Glucose 30 Minuten lang vor Versuchsbeginn mit Glykogen angereichert waren, führte Insulinzusatz nach Einstellung des Decarboxylierungsgleichgewichtes bei ^{14}C-Glucose sowohl in niederen als auch bei hohen Glucoseaußenkonzentrationen (5 mM oder 15 mM ^{14}C-Glucose) zu keiner Erhöhung der Decarboxylierungsrate. Diese blieb Stunden hindurch konstant und senkte sich nur leicht parallel zur Abnahme der Herzleistung.

In anderen Versuchen wurden Herzvorhöfe 2 1/2 Stunden mit 3 mM inaktiver Glucose inkubiert und durch gleichzeitige Leistungssteigerung mit Adrenalinzusatz (1 . 10^{-6} g/ml) an Glykogen verarmt. Nach Ausspülen des Adrenalins wurde zuerst 2 - 3 Stunden mit 3 mM ^{14}C-Glucose inkubiert, das Decarboxylierungsgleichgewicht abgewartet und dann anschließend Insulin gegeben. Es zeigte sich in allen fünf Versuchen ein deutlicher Anstieg der Decarboxylierungsrate (Maximum 57 % im Versuch B 58). Möglicherweise hängt diese Steigerung der Decarboxylierungsrate von ^{14}C-Glucose unter Insulin von der vorherigen ^{14}C-Markierung im

Glykogen und von der Höhe des Glykogengehaltes gegenüber der exogenen Glucosekonzentration ab.

Die Einbaurate von ^{14}C-Glucose in Glykogen zum Zeitpunkt der Insulingabe war in dieser Versuchsanordnung nicht bekannt.

C. Prüfung von Substanzen mit vorwiegendem Angriffspunkt in der Herzleistung

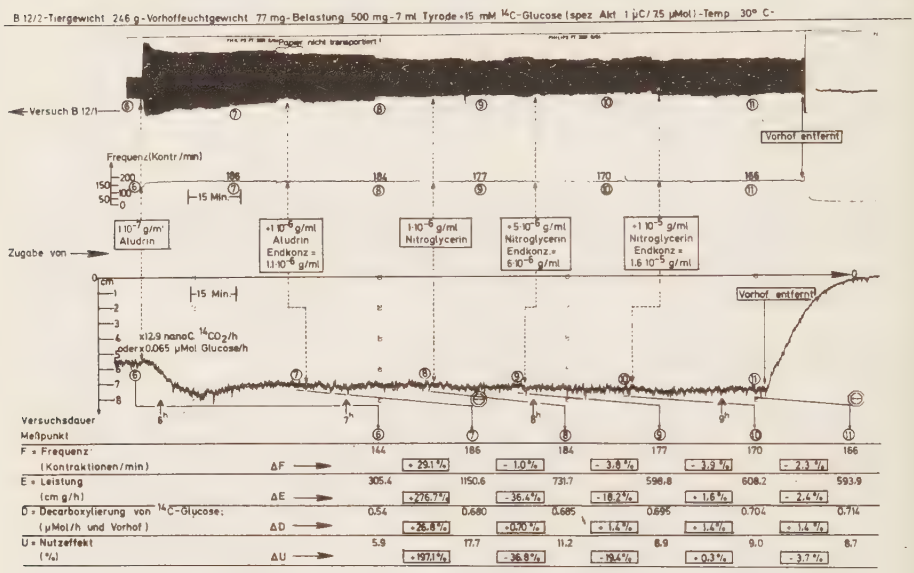
1. E-Rezeptorenstimulierende Substanzen

a) Isoprenalin (Aludrin^{R}), Abb. 15 und 16

Adrenalin^{R} und Noradrenalin^{R} wurden bereits in früheren Versuchen von PETER (1967); GLOMME (1968); SCHNEIDER (1969) in ihrer Wirkung auf die Decarboxylierungsrate von ^{14}C-Glucose, ^{14}C-Hexanoat und Herzleistung eingehend geprüft. Außer den oben genannten Substanzen wurde in unseren Versuchen Isoprenalin (Aludrin^{R}) untersucht. Es kam hierbei im selben Konzentrationsbereich wie bei Adrenalin ($1 \cdot 10^{-6}$ g/ml) zu einer langanhaltenden positiv-ino- und -chronotropen Wirkung und dazu parallel zu einer Steigerung der Decarboxylierungsrate von ^{14}C-Glucose. Nach dem Gipfel kam es wieder vorübergehend zu einem Absinken, wahrscheinlich durch Zurückdrängung der exogenen Glucose durch die aus dem Glykogen stammenden inaktiven Metaboliten. Im Verlauf der nächsten zwei Stunden stieg aber die Decarboxylierungsrate langsam an, ähnlich wie es auch bei Adrenalin beobachtet wurde und kann als Folge des Glykogenschwundes erklärt werden.

Bei Inkubation mit ^{14}C-Na-Hexanoat tritt der oben beschrieben Effekt, wie auch schon früher beobachtet (GLOMME, 1968; SCHNEIDER, 1969) ebenfalls ein, nur bleibt exogenes Hexanoat offensichtlich auch über lange Zeit der überwiegende Verbrennungspartner (Abb. 16). Das endogene Glykogen wird hier langsam abgebaut (PETER, 1969). Die prozentuale Erhöhung der Oxydationsrate von ^{14}C-Na-Hexanoat geht parallel zur Frequenzerhöhung.

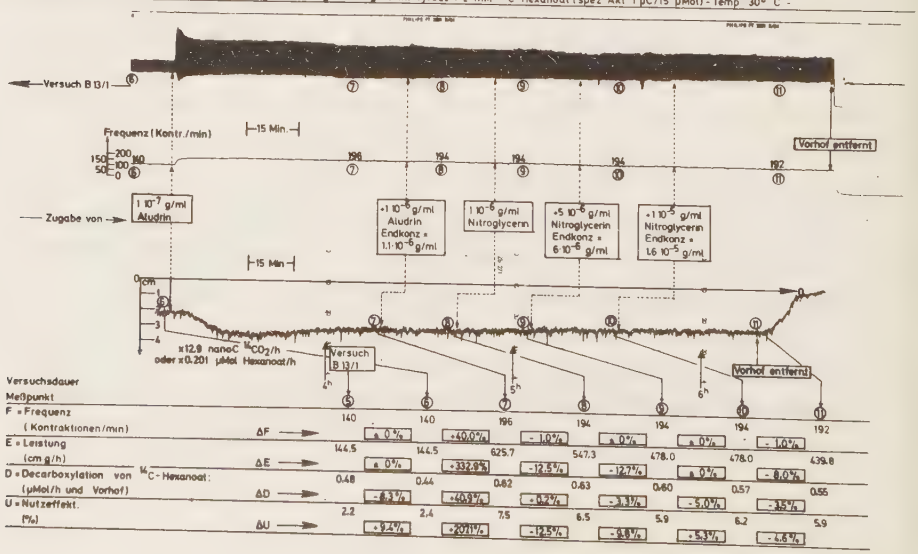
Die Wirkung von Aludrin und Nitroglycerin bei Inkubation mit ^{14}C-Glucose.



F		144		186		184		177		170	166
	ΔF		+ 29,1 %		- 1,0 %		- 3,8 %		- 3,9 %		- 2,3 %
E		305,4		1150,6		731,7		598,8		608,2	593,9
	ΔE		+ 276,7 %		- 36,4 %		- 18,2 %		+ 1,6 %		- 2,4 %
D		0,54		0,680		0,685		0,695		0,704	0,714
	ΔD		+ 26,8 %		+ 0,70 %		+ 1,4 %		+ 1,4 %		+ 1,4 %
U		5,9		17,7		11,2		8,9		9,0	8,7
	ΔU		+ 197,1 %		- 36,8 %		- 19,4 %		+ 0,3 %		- 3,7 %

Abb. 15

Die Wirkung von Aludrin und Nitroglycerin bei Inkubation mit ^{14}C-Hexanoat.



F		140		140		196		194		194	192
	ΔF		± 0 %		+ 40,0 %		- 1,0 %		± 0 %		- 1,0 %
E		144,5		144,5		625,7		547,3		478,0	439,8
	ΔE		± 0 %		+ 332,9 %		- 12,5 %		- 12,7 %		- 8,0 %
D		0,48		0,44		0,62		0,63		0,57	0,55
	ΔD		- 8,3 %		+ 40,9 %		+ 0,2 %		- 3,1 %		- 3,5 %
U		2,2		2,4		7,5		6,5		5,9	5,9
	ΔU		+ 9,4 %		+ 207,1 %		- 12,5 %		- 5,8 %		- 4,6 %

Nitroglycerin hatte in keinem Falle eine ß-Rezeptoren-blockierende Eigenschaft bei Konzentrationen bis zu 1,5 . 10^{-5} g/ml (Abb. 15 und 16).

b) 1-(3-Hydroxyphenyl)-2-(phenylbutyl-(2)-amino)-äthanol-(1) = D 477 A (Abb. 17, 18 und 19)

Als weitere Substanzen mit ß-Rezeptoren-stimulierendem Effekt wurde eine Phenylbutylamino-äthanol-Verbindung mit der Versuchsbezeichnung D 477 A (Firma THORON) untersucht. Es zeigte sich dabei, daß D 477 A im Konzentrationsbereich von 5 . 10^{-7} g/ml eine deutlich positiv-inotrope Wirkung hatte (86 %), während die Frequenzsteigerung nicht sehr ausgeprägt war (10 %), Abb. 17. Die positiv-inotrope Wirkung hielt ohne den bei Aludrin und Adrenalin auftretenden Anfangsgipfel lange an. Nachfolgende Gabe von Adrenalin, auch in hohen Konzentrationen, führte zu keiner Verstärkung des positiv-inotropen Effektes; die Frequenz sank sogar etwas ab (Abb. 17). In diesem Versuch war durch 7 mM Na-Pyruvat die Glucose-Oxydation herabgesetzt, daher der relativ hohe Nutzeffekt. Interessant ist nun, daß Adrenalin ohne Beeinflussung der Leistung hier eine deutliche Erhöhung der Decarboxylierungsrate hervorruft. Dies könnte auf Freisetzung aus ^{14}C-markierten Metaboliten aus dem Glykogen beruhen, da die Oxydation aus exogener ^{14}C-Glucose durch Pyruvat weitgehend unterdrückt war. Mit einschleichenden Dosen konnte vor allem bei Inkubation mit ^{14}C-Na-Hexanoat keine positiv-inotrope Wirkung ausgelöst werden, die Frequenz sank sogar laufend ab (Abb. 18 und 19). Wie aus Abb. 18 hervorgeht, wurden nach Einstellung des Decarboxylierungsgleichgewichtes bei ^{14}C-Na-Hexanoat zuerst 5 mM inaktive Glucose gegeben. Dies rief den bekannten positiv-inotropen Effekt (SIESS und GLOMSET, 1968) hervor, der mit einem vorübergehenden Anstieg der ^{14}C-Hexanoat-Oxydation verbunden war. Die Zugabe von D 477 A führte in der Konzentration von 1 . 10^{-7} g/ml bereits zur deutlichen Herabsetzung der Frequenz und konform damit zur Senkung der Decarboxylierungsrate von ^{14}C-Hexanoat. Bei einer Konzentration von 8,5 . 10^{-6} g/ml (Abb. 19) war neben einer weiteren Frequenzsenkung auch eine deutlich negativ-inotrope Wirkung zu verzeichnen. Anschließende Zugaben von

Wirkung von Adrenalin auf Leistung und Decarboxylierungsrate von ^{14}C-Glucose nach Zugabe von D477-A.

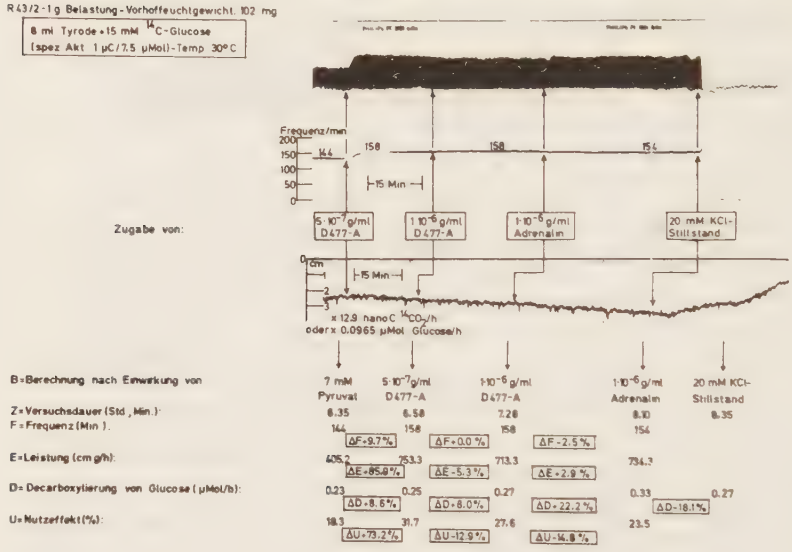


Abb. 17

Wirkung von D477-A auf Leistung und Decarboxylierungsrate von ^{14}C-Hexanoat nach Zugabe von 5 mM Glucose.

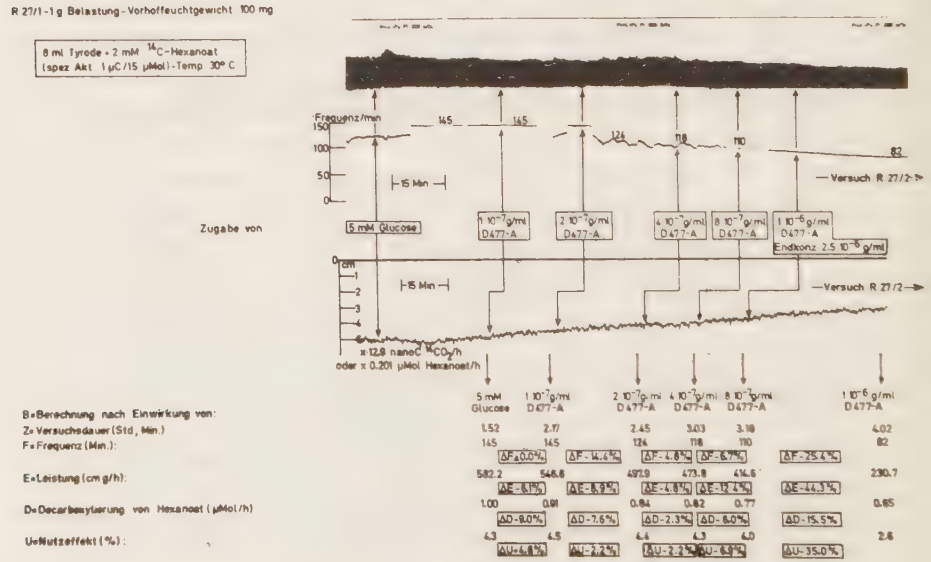
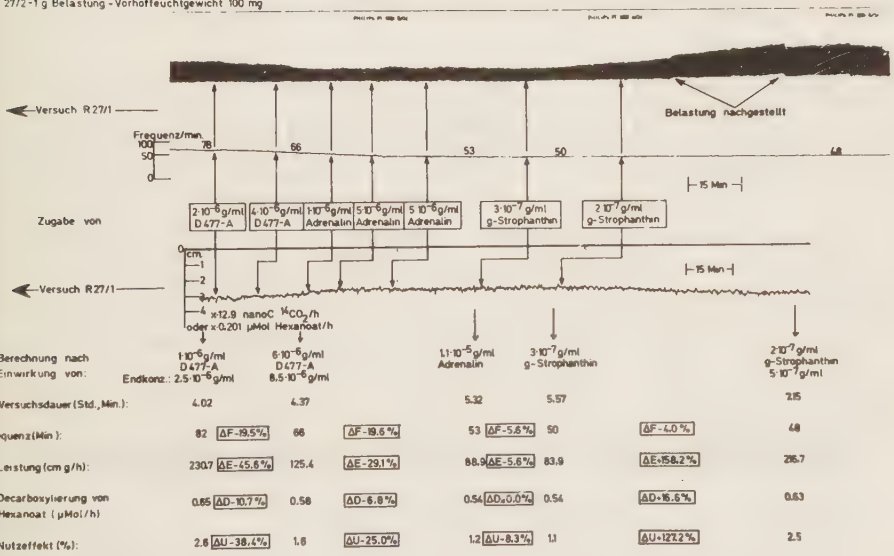


Abb. 18

Wirkung von Adrenalin und g-Strophanthin auf Leistung und Decarboxylierungsrate von ^{14}C-Hexanoat nach Zugabe von D477-A.

8 ml Tyrode + 2 mM ^{14}C-Hexanoat (spez. Akt. 1 µC/15 µMol) - Temp. 30° C

R 27/2 - 1 g Belastung - Vorhoffeuchtgewicht 100 mg



B=Berechnung nach Einwirkung von:	1·10⁻⁶ g/ml D477-A Endkonz.: 2.5·10⁻⁶ g/ml		6·10⁻⁶ g/ml D477-A 8.5·10⁻⁶ g/ml		1.1·10⁻⁵ g/ml Adrenalin	3·10⁻⁷ g/ml g-Strophanthin		2·10⁻⁷ g/ml g-Strophanthin 5·10⁻⁷ g/ml
Z=Versuchsdauer (Std., Min.):	4.02		4.37		5.32	5.57		2.15
Frequenz (Min):	82	ΔF -19.5%	66	ΔF -19.6 %	53	ΔF -5.6%	50	ΔF -4.0 %	48
E=Leistung (cm g/h):	230.7	ΔE -45.6 %	125.4	ΔE -29.1 %	88.9	ΔE -5.6 %	83.9	ΔE +158.2 %	216.7
D=Decarboxylierung von Hexanoat (µMol/h)	0.65	ΔD -10.7 %	0.58	ΔD -6.8 %	0.54	ΔD ±0.0 %	0.54	ΔD +16.6 %	0.63
U=Nutzeffekt (%):	2.8	ΔU -38.4 %	1.8	ΔU -25.0 %	1.2	ΔU -8.3 %	1.1	ΔU +127.2 %	2.5

Abb. 19

hohen Dosen Adrenalin (Endkonzentration 1,1 . 10^{-5} g/ml) zeigten keine Wirkung mehr. Daß der Herzmuskel aber noch nicht erschöpft war, zeigt die volle Ansprechbarkeit auf Strophanthin. Selbst im sonst sicher toxischen Konzentrationsbereich von 5 . 10^{-7} g/ml kam es nur zu einer Erhöhung der Kontraktionsamplitude, die etwa nach einer Stunde die Ausgangshöhe erreichte. Die Gesamtleistung war durch die niedrige Frequenz herabgesetzt, die toxische Frequenzsteigerung blieb aus. Die Substanz D 477 A zeigte damit bei einer ausgesprochenen Affinität zu den ß-Rezeptoren und einer schwach ausgeprägten positiv-ino- und -chronotropen Eigenwirkung, die nach einschleichenden Dosen ausblieb, sogar einen ß-Rezeptoren blockierenden Effekt gegen nachfolgende Gaben von Adrenalin.

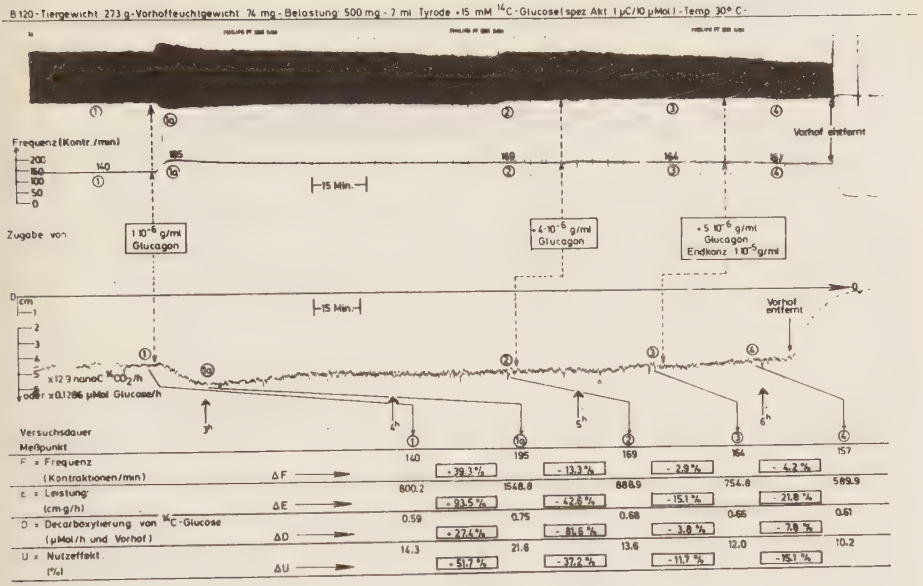
2. Glucagon (Abb. 20)

1 . 10^{-6} g/ml Glucagon zeigte eine deutlich positiv-ino- und -chronotrope Wirkung. Dieser Effekt trat bei weiterer Zugabe, auch nach Erhöhung der Dosen (Endkonzentration: 5 . 10^{-6} g/ml), nicht mehr ein, es kam sogar zu einem langsamen Abfall der Kontraktionsamplitude und der Frequenz. Da die Decarboxylierungsrate etwas geringer zunahm (27,4 %) als es nach diesem Frequenzanstieg (39,3 %) zu erwarten war, muß angenommen werden, daß beträchtliche endogene Anteile verbrannt werden. Somit hat die Wirkung starke Ähnlichkeit mit der von Adrenalin, nur ist sie hinsichtlich der Kontraktionsamplitude wesentlich schwächer.

3. Theophyllin (Euphyllin^{R}), Abb. 21 und 22

Theophyllin (Euphyllin^{R}), das in ansteigender Konzentration gegeben wurde, zeigte ab 1 . 10^{-4} g/ml eine deutliche positiv-ino- und -chronotrope Wirkung. Diese führte im Bereich von 5 . 10^{-4} g/ml zu einer Steigerung der Decarboxylierungsrate um 30 %, die stärker war als der Frequenzanstieg (13,6 %). Infolge der starken positiv-inotropen Wirkung stieg der Nutzeffekt von oxydierter exogener Glucose stark an (von 6,4 auf 11,7 %) (Abb. 21). Über eine Steigerung des Verbrennungsanteils aus der endogenen Glykolyse kann hier wenig ausgesagt werden:

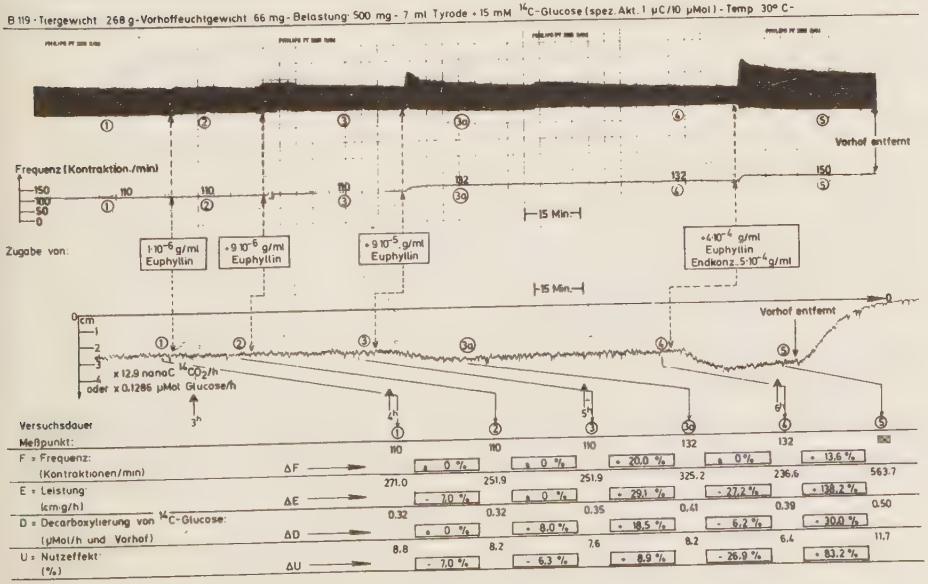
Die Wirkung von Glucagon bei Inkubation mit ^{14}C-Glucose.



F	140	195	169	164	157
		+ 39,3 %	- 13,3 %	- 2,9 %	- 4,2 %
E	800,2	1548,8	888,9	754,8	589,9
		+ 93,5 %	- 42,8 %	- 15,1 %	- 21,8 %
D	0,59	0,75	0,68	0,65	0,61
		+ 27,4 %	- 81,6 %	- 3,8 %	- 7,8 %
U	14,3	21,6	13,6	12,0	10,2
		+ 51,7 %	- 37,2 %	- 11,7 %	- 15,1 %

Abb. 20

Die Wirkung von Euphyllin bei Inkubation mit ^{14}C-Glucose.



F	110	110	110	132	132	
		0 %	0 %	+ 20,0 %	0 %	+ 13,6 %
E	271,0	251,9	251,9	325,2	236,6	563,7
		- 7,0 %	0 %	+ 29,1 %	- 27,2 %	+ 138,2 %
D	0,32	0,32	0,35	0,41	0,39	0,50
		0 %	+ 8,0 %	+ 18,5 %	- 6,2 %	+ 30,0 %
U	8,8	8,2	7,6	8,2	6,4	11,7
		- 7,0 %	- 6,3 %	+ 8,9 %	- 26,9 %	+ 83,2 %

Einerseits spricht die Erhöhung des "Nutzeffektes" dafür, andererseits die nicht mit der Frequenz konform gehende stärkere Glucoseoxydation dagegen.

4. Leistungssteigerung durch vorwiegend positiv-inotrope Wirkung (Abb. 22 und 23 B)

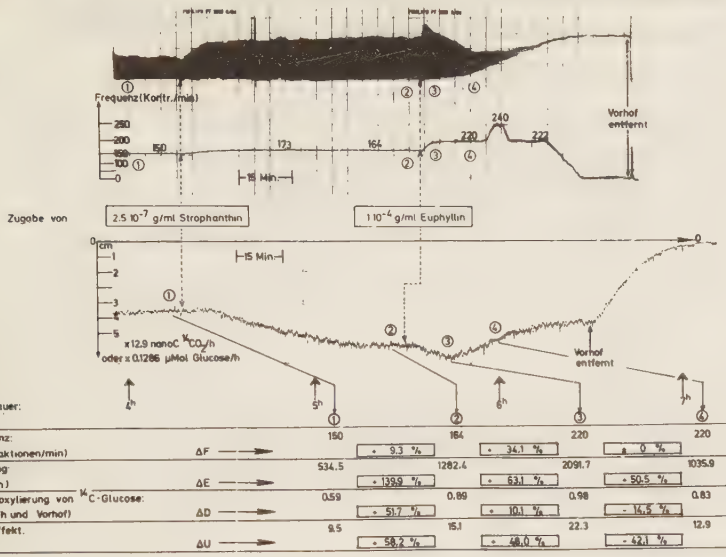
Geprüft wurde g-Strophanthin (im Bereich von $2{,}5 \cdot 10^{-7}$ g/ml), das vor allem nach vorhergehender Hemmwirkung mit ß-Rezeptorenblockern Xylocain und Novocain gegeben wurde.

Auch ohne vorherige Hemmwirkung führte g-Strophanthin zur bekannten positiv-ino- und -chronotropen Wirkung (Abb. 22). Nach Überschreiten des positiv-inotropen Maximums kam es bei dieser Konzentration meist zu Rhythmusstörungen und zum anschließenden Frequenzanstieg mit Rückstandskontraktur als toxischem Effekt. Die Decarboxylierungsrate erhöhte sich bei einer 100 %igen Leistungssteigerung und konstanter Frequenz, wie auch schon früher bei GROSSE (1968) beobachtet, sowohl bei ^{14}C-Glucose als auch bei ^{14}C-Na-Hexanoat um etwa 20 bis 30 %. Nur bei Anstieg der Frequenz kam es zur weiteren Erhöhung der Decarboxylierungsrate.

Im Versuch B 112 (Abb. 22) zeigte sich bei der therapeutischen Dosis von $2{,}5 \cdot 10^{-7}$ g/ml g-Strophanthin eine sehr deutliche positiv-inotrope Wirkung (140 %) bei einer Frequenzsteigerung von 9,3 %. Die Decarboxylierungsrate war um 52 % erhöht, so daß der Nutzeffekt der exogenen Glucose deutlich anstieg (58 %). Auf dem Gipfel der positiv-inotropen Wirkung wurde Euphyllin^{R} ($1 \cdot 10^{-4}$ g/ml) gegeben. Es folgte eine kurzfristige Erhöhung der Kontraktionskraft und eine starke Steigerung der Frequenz auf 220 - 240/min. Dabei kam es als Folge der Frequenzsteigerung zu einer raschen Rückstandskontraktur und parallel dazu zu einem kurzen Anstieg der Decarboxylierungsrate, welche anschließend wieder abfiel aber auf einen erhöhten Grundstoffwechsel auch nach Systieren der Aktion eingestellt blieb. Es zeigte sich dabei die alte Beobachtung bestätigt, daß jede Frequenzsteigerung unter Strophanthin zum toxischen Stillstand führt (SIESS, 1969).

Die Wirkung von Strophanthin und Euphyllin bei Inkubation mit ^{14}C-Glucose.

B122-Tiergewicht 416 g-Vorhoffeuchtgewicht: 92 mg - Belastung: 1000 mg - 7 ml Tyrode + 15 mM ^{14}C-Glucose (spez Akt. 1 µC/10 µMol) - Temp. 30°C



Versuchsdauer: Meßpunkt.		①		②		③		④
F = Frequenz: (Kontraktionen/min)	ΔF →	150	+ 9.3 %	164	+ 34.1 %	220	± 0 %	220
E = Leistung: (cm g/h)	ΔE →	534.5	+ 139.9 %	1282.4	+ 63.1 %	2091.7	- 50.5 %	1035.9
D = Decarboxylierung von ^{14}C-Glucose: (µMol/h und Vorhof)	ΔD →	0.59	- 51.7 %	0.89	+ 10.1 %	0.98	- 14.5 %	0.83
U = Nutzeffekt. (%)	ΔU →	9.5	- 58.2 %	15.1	+ 48.0 %	22.3	- 42.1 %	12.9

Abb. 22

5. Agentien mit Hemmwirkungen auf Kontraktilität und Frequenz

a) ß-Rezeptorenblocker (Abb. 23 A, B und 24)

Auf die ß-rezeptorenblockierende Eigenschaft der Substanz D 477 A wurde bereits hingewiesen.

Als ausgesprochener ß-Rezeptorenblocker, der bei keiner Dosierung eine positiv-ino- und -chronotrope Wirkung hervorrief, wurde DL-Oxprenolol (Trasicor^{R}) in ansteigenden Dosen bei Inkubation mit ^{14}C-Glucose oder ^{14}C-Na-Hexanoat untersucht.

Wie aus Abb. 23 hervorgeht, begann im Konzentrationsbereich von 1 . 10^{-8} g/ml allmählich eine negativ-inotrope Wirkung, während die Frequenzsenkung erst im Konzentrationsbereich zwischen 1 . 10^{-7} g/ml und 5 . 10^{-5} g/ml erfolgte. Extrasystolen dieses Herzvorhofpräparates wurden ab 5 . 10^{-7} g/ml Trasicor bei negativ-inotroper Wirkung unterdrückt. Die Decarboxylierungsrate ging nicht entsprechend zurück, so daß der Nutzeffekt der von außen zugeführten Energie abnahm. Wie auch bei D 477 A beobachtet, führte eine nachfolgende Gabe von Adrenalin -als Beweis der ß-Rezeptorenblockade- zu keinem Effekt mehr (Abb. 23 B, Mp. 8). Die Kontraktionsamplitude wurde dagegen unter Strophanthin bis zum Ausgangswert gesteigert (Abb. 23 B, Mp. 11) und überstieg diesen sogar noch um 30 % (Abb. 24). Die Leistung pro Stunde stieg nur wenig, da die Frequenz weiter absank. Auf dem Gipfel der positiv-inotropen Wirkung unter Strophanthin wurde mit 5 mM Glucose eine weitere Verstärkung der positiv-inotropen Wirkung mit leichter Zunahme der Hexanoat-Oxydation erzielt. Der Nutzeffekt des exogenen, verbrannten ^{14}C-Na-Hexanoats stieg daher weiter an. Über den O_2-Verbrauch kann bei dieser Versuchsordnung nichts ausgesagt werden, doch ist aus analogen Versuchen (durch KELLER, 1970 und RANGE, 1970) bekannt, daß der O_2-Verbrauch ebenfalls nach Glucosezusatz nur sehr wenig ansteigt. Dieses könnte mit dem geringen Anstieg des oxydierten ^{14}C-Hexanoats erklärt werden.

Wie aus Abb. 24 ersichtlich, bestehen bei Inkubation mit ^{14}C-Glucose und ^{14}C-Na-Hexanoat keine prinzipiellen Unterschiede.

Teil A: Die Wirkung von Trasicor bei Inkubation mit ^{14}C-Hexanoat

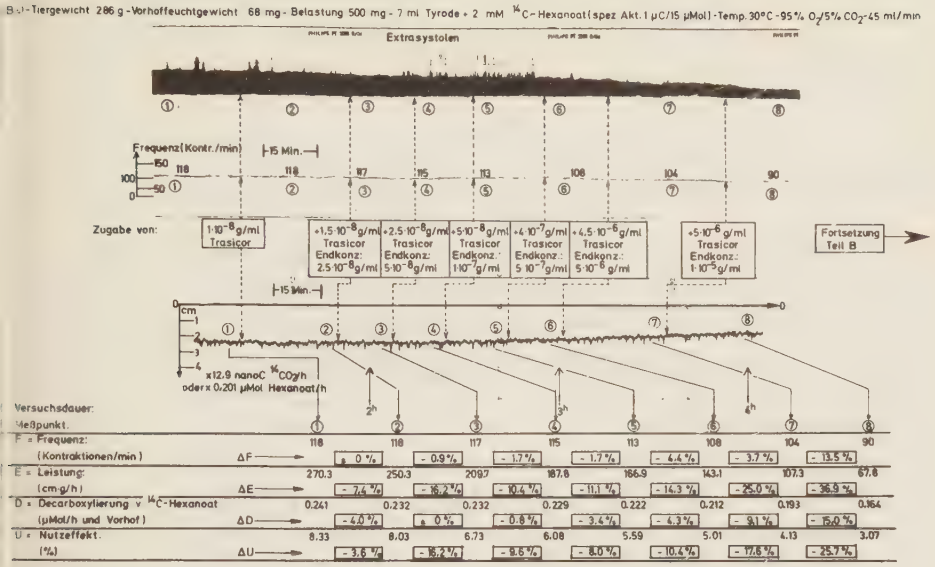
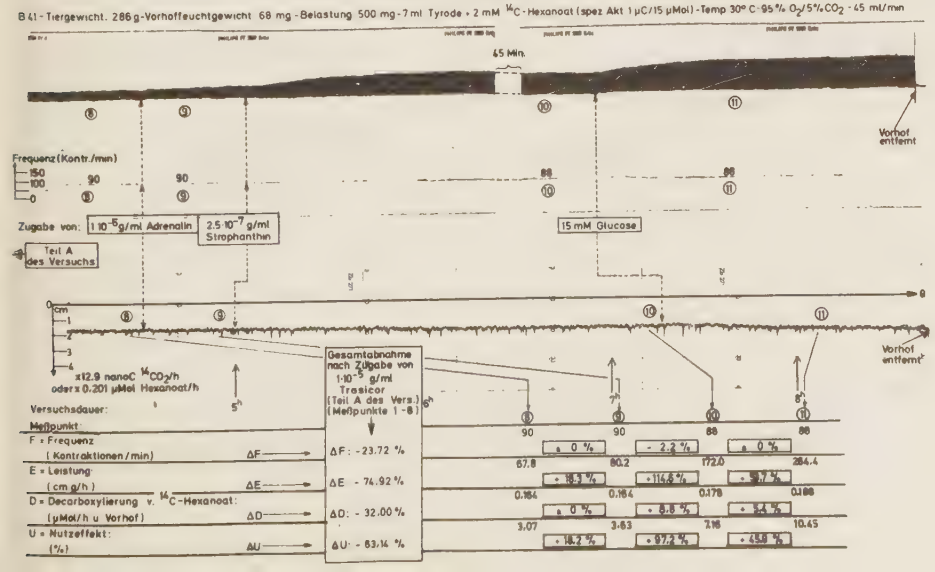


Abb. 23 A

Teil B: Die Wirkung von Adrenalin, Strophanthin und Glucose bei Inkubation mit ^{14}C-Hexanoat nach vorheriger Zugabe von Trasicor (Teil A des Versuches)



Die Wirkung von Trasicor[R] mit nachfolgender Zugabe von Adrenalin, Strophanthin und Glucose bei Inkubation mit ^{14}C-Hexanoat und ^{14}C-Glucose

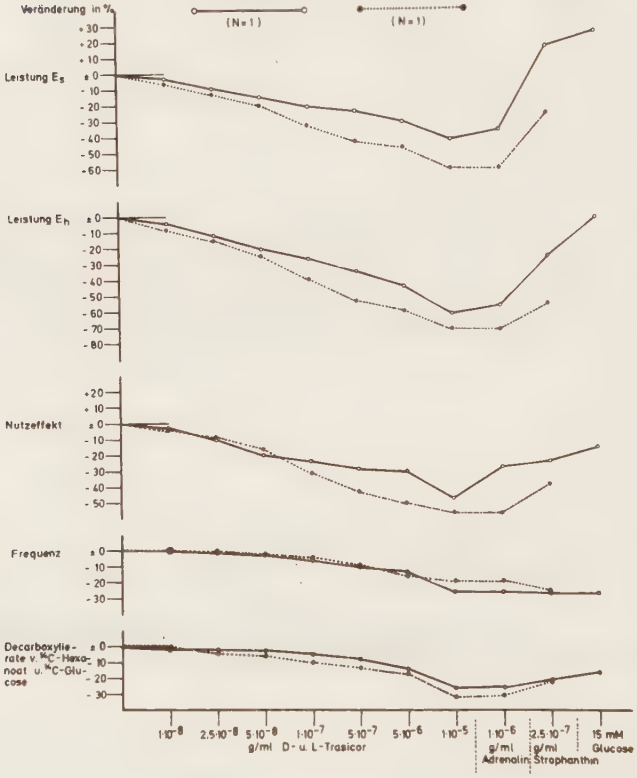


Abb. 24

Feine Unterschiede hinsichtlich der Wirkungsstärke wurden von RANGE (1970) statistisch mit gleichzeitiger Registrierung des O_2-Verbrauchs an einem großen Material herausgearbeitet und für die L-Form von Trasicor gezeigt. Hier wurde das racemische Gemisch geprüft.

b) Die Wirkung von Lidocain (Xylocain^R) und Procain (Novocain^R) (Abb. 25 und 26 A und B)

Die Kontraktionsamplitude unter Lidocain oder Procain (Abb. 25 und 26) wurde durch Konzentrationen ab 1 . 10^{-8} g/ml herabgesetzt, während die Frequenz im Unterschied zu den ß-Rezeptorenblockern erst im hohen Konzentrationsbereich und dabei unter Lidocain stärker als bei Procain abnahm. Die Decarboxylierungsrate blieb von dieser Änderung bei Procain völlig unberührt, bei Lidocain zeigte sich parallel zur Frequenzabnahme eine allmähliche Senkung. Trotz der hohen Konzentration (bei Procain 1 . 10^{-5} g/ml und bei Lidocain 5 . 10^{-5} g/ml) kam die Wirkung von 1 . 10^{-6} g/ml Adrenalin im Unterschied zu den vorher beschriebenen ß-Rezeptorenblockern bei beiden Substanzen voll zur Wirkung. Es zeigte sich eine starke Zunahme der Leistung und Frequenz und eine langanhaltende starke Steigerung der Decarboxylierungsrate. Diese ist bei Novocain besonders stark, woraus man schließen könnte, daß hier hauptsächlich exogene Glucose für die Oxydationserhöhung herangezogen wurde.

Unter Lidocain entsprach die prozentuale Zunahme der Decarboxylierungsrate der Frequenzsteigerung. Durch Zugabe eines ß-Rezeptorenblockers (Propranolol = Dociton^R) 5 . 10^{-8} bis 10^{-7} g/ml konnte der Adrenalineffekt sofort unterdrückt werden. Nachfolgende Zugabe von Strophanthin (2,5 . 10^{-7} g/ml) führte ohne entsprechende Erhöhung der umgesetzten exogenen Glucose zu stark positiv-inotroper Wirkung und dadurch zu einer deutlichen Erhöhung des Nutzeffektes (Abb. 25 A und B, 26 A und B).

c) Diphenylhydantoin (Epanutin^R), Abb. 27 und 28

Im Konzentrationsbereich ab 1 . 10^{-6} g/ml zeigte Epanutin einen deutlich negativ-inotropen Effekt, ohne daß dabei die Frequenz

Die Wirkung von Adrenalin, Dociton und Strophanthin bei Inkubation mit ^{14}C-Glucose nach vorheriger Zugabe von Xylocain

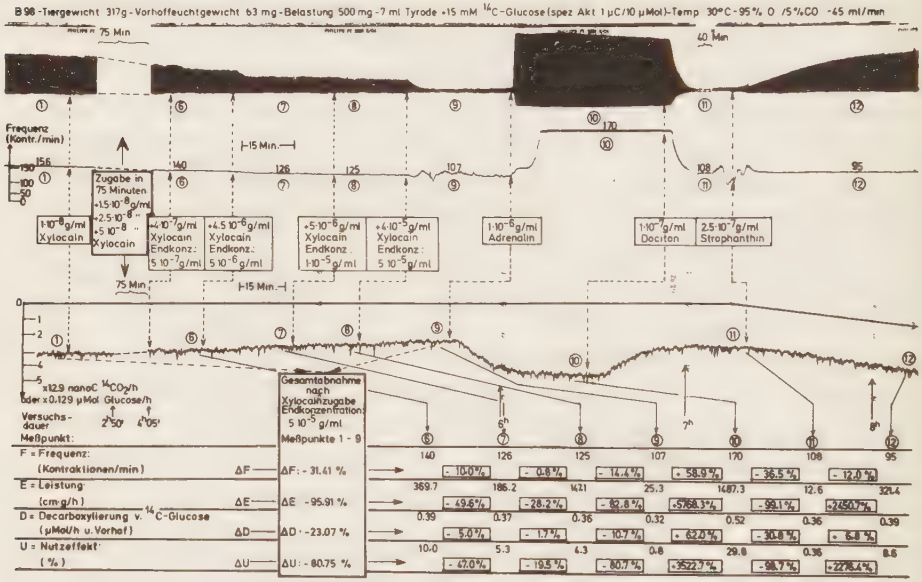


Abb. 25 A

Die Wirkung von Xylocain mit nachfolgender Zugabe von Adrenalin, Dociton und Strophanthin bei Inkubation mit ^{14}C-Glucose

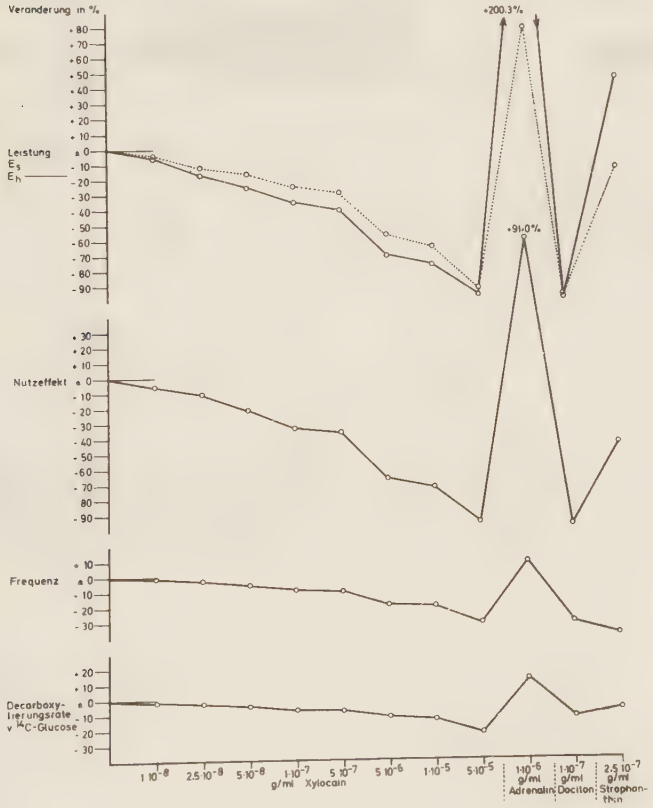


Abb. 25 B

Die Wirkung von Adrenalin, Dociton und Strophanthin bei Inkubation mit ^{14}C-Glucose nach vorheriger Zugabe von Novocain

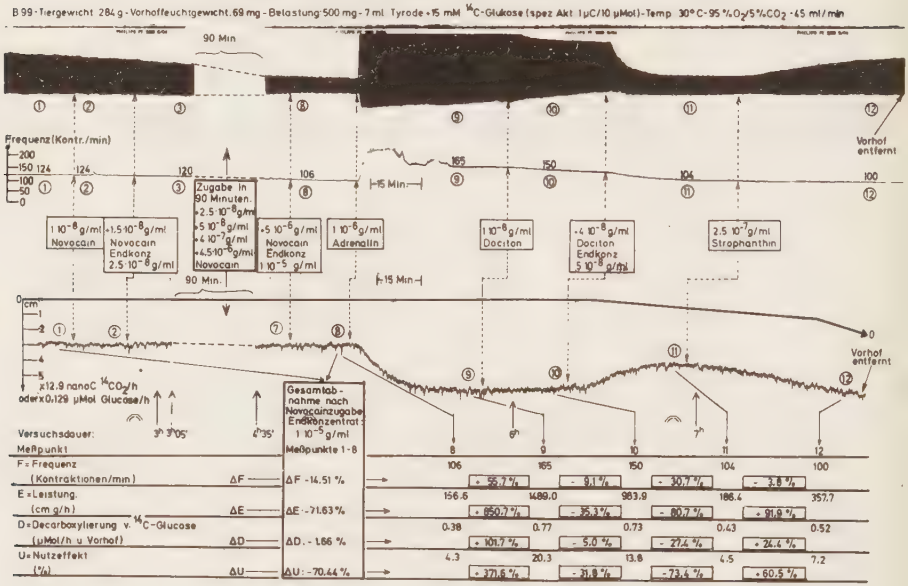


Abb. 26 A

Die Wirkung von Novocain mit nachfolgender Zugabe von Adrenalin, Dociton und Strophanthin bei Inkubation mit ^{14}C-Glucose

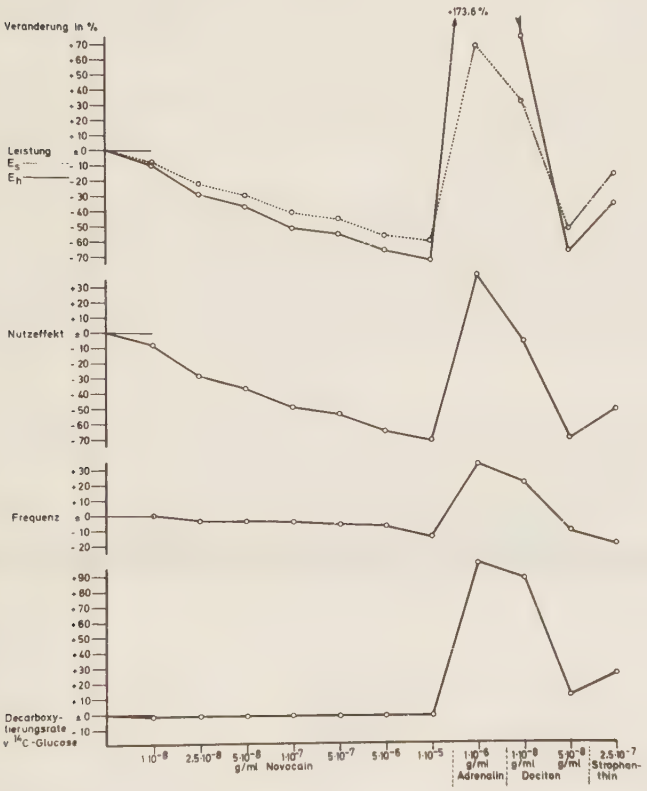


Abb. 26 B

wesentlich herabgesetzt wurde. Erst ab 2,5 . 10^{-6} g/ml kam es zu einer geringen Frequenzsenkung (Abb. 27) von 114/min auf 102/min. Zugabe von Strophanthin (2,5 . 10^{-7} g/ml) führte zu einer starken positiv-inotropen Wirkung, welche die Ausgangsamplitude überstieg. Es trat aber keine toxische Phase im Sinne einer Frequenzsteigerung ein, wenn auch Rhythmusstörungen in diesem Versuch nicht vermieden wurden. Trasicor im Bereich von 1 . 10^{-6} g/ml und Dociton im Bereich von 1 . 10^{-7} g/ml hatten hier keinen Einfluß auf Kontraktionsamplitude und Frequenz.

In einem weiteren Versuch wurde in der toxischen Phase des Strophanthins bei Beginn von Rhythmusstörungen Epanutin (1 . 10^{-6} g/ml) gegeben (Abb. 28). Es trat dabei ein deutlicher Frequenzabfall ein, zunächst aber ohne Beeinflussung der Rhythmusstörungen. Erst im Bereich von 5 . 10^{-6} g/ml kam es unter deutlich negativ-inotroper Wirkung (- 50 %) mit weiterer Frequenzsenkung auf ~ 50 % des Ausgangswertes zum Systieren der Extrasystolie und zur Normalisierung des Rhythmus.

Die Decarboxylierungsrate sank immer schwächer ab als die Leistung, so daß auch hier eine Herabsetzung des Nutzeffektes des exogenen oxydierten Substrates resultierte.

Die Wirkung von Epanutin bei Inkubation mit ^{14}C-Glucose und nachfolgender Zugabe von Strophanthin, Trasicor und Dociton

B 103 - Tiergewicht 276 g - Vorhoffeuchtgewicht: 81 mg - Belastung 500 mg - 7 ml Tyrode + 15 mM ^{14}C-Glucose (spez Akt 1 µC/10 µMol) - Temp 30°C - 95 % O_2/5 % CO_2 - 45 ml/min

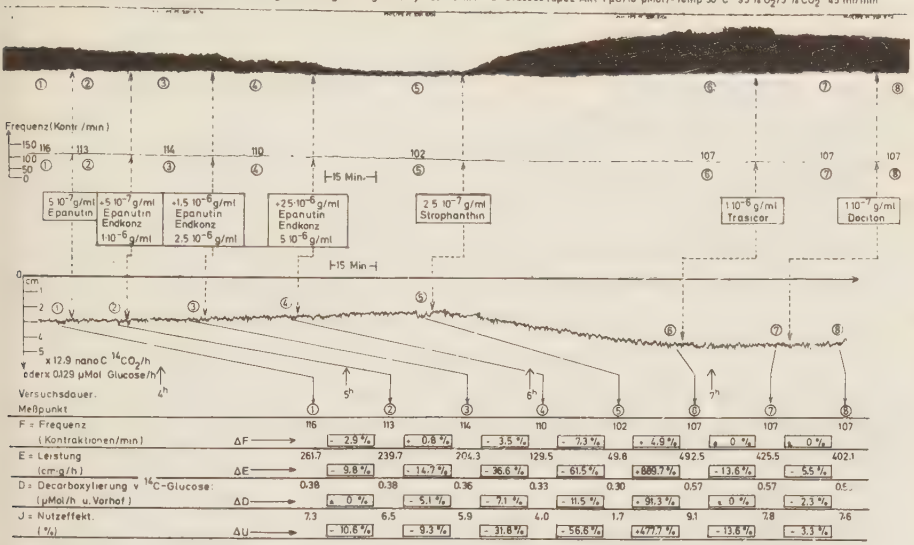


Abb. 27

Die Wirkung von Epanutin bei Inkubation mit ^{14}C-Glucose nach vorheriger Zugabe von Strophanthin

B 104 - Tiergewicht, 269 g - Vorhoffeuchtgewicht: 73 mg - Belastung: 500 mg - 7 ml Tyrode + 15 mM Glucose (spez. Akt. 1 µC/10 µMol) - Temp. 30° C - 95 % O_2/5 % CO_2 - 45 ml/min -

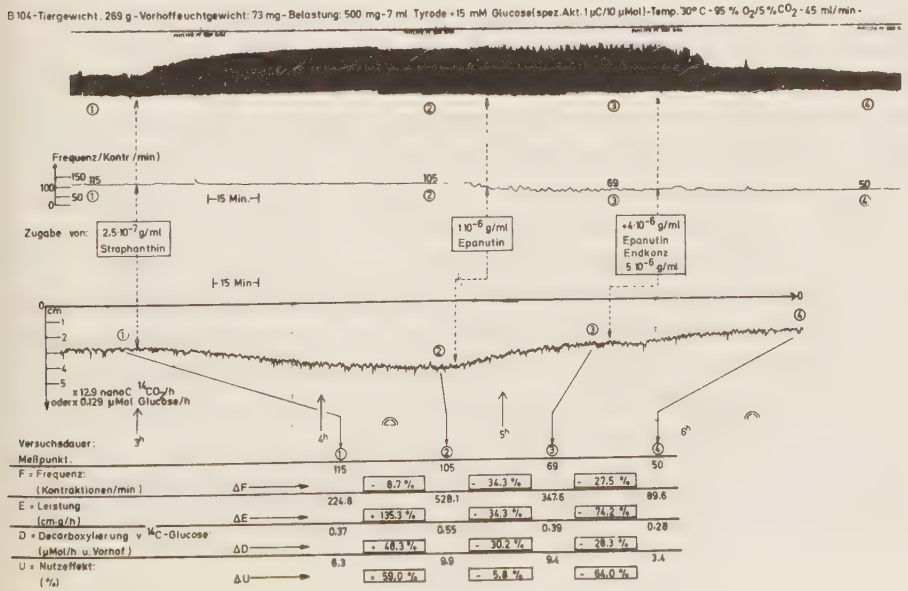


Abb. 28

IV. D I S K U S S I O N

1. Die Oxydation exogener ^{14}C-markierter Substrate durch isolierte Herzvorhöfe

a) Fettsäuren

Für Glucose und Hexanoat wurde mit der gleichen Methode bereits in früheren Untersuchungen (SIES, GLOE, 1968) die Abhängigkeit der Decarboxylierungsrate von der Substratkonzentration am schlagenden und am stillgestellten Herzvorhof bestimmt. Die auffallende Diskrepanz zwischen der Michaelis-Konstanten von 0,46 mM für Hexanoat gegenüber 10,0 mM für Glucose bei annähernd gleichhoher Umsatzrate erklärt die Bevorzugung der Verbrennung von Fettsäuren durch den Herzmuskel als Folge eines leichteren Eindringens in die Herzmuskelzelle. Inzwischen wurde von SCHNEIDER (1969) die Aufnahmekinetik auch für Pyruvat und Lactat geprüft, die in der Michaelis-Konstanten (k_m = 0,84 - 1,2mM) etwas ungünstiger liegen als die Fettsäure Hexanoat bei einem V_{max}, das umgerechnet etwa einem gleichgroßen Sauerstoffverbrauch wie unter ^{14}C-Glucose und ^{14}C-Na-Hexanoat entspricht. Die von uns geprüfte Fettsäure Na-Nonanoat hat eine ungerade Zahl an C-Atomen und mündet daher über Propionyl-Coenzym A in den Zitrat-Cyklus. Es ist interessant, daß hier die Michaelis-Konstante mit 0,18 mM deutlich niedriger ist als die bei Hexanoat und daher Nonanoat leichter in die Herzmuskelzelle eindringt. Das deutlich erniedrigte V_{max} zeigt aber auch, daß es in geringerem Umfange umgesetzt wird. Dem entspricht auch die wesentlich weniger ausgeprägte Hemmwirkung der ^{14}C-Glucose-Oxydation nach Zugabe inaktiven Hexanoats. Während die Hemmwirkung im gleichen Bereich, in dem die eigene Oxydation ansteigt (Michaelis-Konstante 0,184 mM), den größten Effekt ausübt, wird die ^{14}C-Glucose-Oxydation maximal nur um ~ 40 % herabgesetzt, durch Hexanoat bis zu ~ 80 %.

Interessant ist, daß in der Versuchsreihe mit Hexanoat eine stärkere Hemmung der ^{14}C-Glucose-Oxydation beobachtet wurde als

in allen früheren Versuchen (PETER, 1967, SCHNEIDER, 1969). Die Oxydation wurde bis auf 20 % des Ausgangswertes zurückgedrängt, konnte aber durch Frequenzerhöhung durch Adrenalin wieder reversibel beeinflußt werden.

Es wird im allgemeinen angenommen, daß langkettige Fettsäuren auf Grund ihrer Lipidlöslichkeit auch besser in die Zelle eindringen. Kinetische Untersuchungen sind aber bisher an isolierten Organen dazu nicht durchgeführt worden. Bekannt ist aus den Untersuchungen von SHIPP, OPIE und CHALLONER (1961), ferner aus den Untersuchungen von WILLIAMSON (1964), weiter von VAHOUNI, KATZEN und [illegible] (1967), daß Palmitat die Glucose-Oxydation am isolierten, perfundierten Rattenherzen hemmt. Es hängt aber dabei offensichtlich völlig von der Ausgangslage und von der Versuchsbedingung ab, bis zu welchem Grade dies möglich ist (VAHOUNI, KATZEN und [illegible], 1967).

Daß Hexanoat wie auch Pyruvat und Lactat innerhalb bestimmter Konzentrationen die ^{14}C-Glucose-Oxydation kompetitiv hemmen, ist von SIESS und [illegible] (1968) sowie von SCHNEIDER (1969) gezeigt worden. Es dürfte daher auch bei der Hemmung des Glucoseumsatzes durch Nonanoat vermutlich am Coenzym A eine ähnliche Konkurrenz dabei eine Rolle spielen.

Die Decarboxylierungsrate von ^{14}C-Na-Nonanoat kann mit Adrenalin beträchtlich gesteigert werden. Die prozentuale Oxydationssteigerung war aber niedriger als die Frequenzsteigerung, so daß angenommen werden muß, daß endogene Glykogenvorräte an der Leistungssteigerung anteilmäßig beteiligt sind. Auch kam es nach Schwund des Glykogens zur Kontraktur, ähnlich wie es auch bei Hexanoat beobachtet wurde (GLOMME, 1968). Nach der ß-Rezeptorenblockierung mit Trasicor sanken Frequenz und Kontraktionsamplitude ab, wie auch die Nonanoat-Oxydation im gleichen Maße herabgesetzt wurde. Offensichtlich wird der negativ-inotrope Effekt der Fettsäuren mit Erhöhung der C-Zahl größer. Dies erklärt, daß der Nutzeffekt des verbrannten exogenen Nonanoats sehr gering ist.

b) Glycerin

Die Versuche mit ^{14}C-Glycerin zeigten, daß trotz hoher Konzentration (10 mM) nur eine minimale Umsatzrate zu verzeichnen war, die etwa 3 - 5 % am Sauerstoffverbrauch entsprechen. Entsprechend bewirkt auch inaktives Glycerin weder bei ^{14}C-Glucose noch bei ^{14}C-Na-Hexanoat eine über den Leistungsabfall hinausgehende Hemmung der Decarboxylierungsrate dieser Substrate. Auch nach Steigerung der Leistung durch Adrenalin fand sich wohl eine prozentual mit der Frequenzerhöhung gehende Steigerung der Decarboxylierungsrate, die maximal 5 % des gesteigerten Sauerstoffverbrauchs entsprechen konnte und darum energetisch ohne Bedeutung ist. Als Energiequelle kann daher ^{14}C-Glycerin auf keinen Fall dienen. Wie die Versuche von DALGLIESH (1970) zeigten, wurde ^{14}C-Glycerin auch nur in Spuren in Lipide oder ins Glykogen (bei 8 Stunden Inkubation) eingebaut. Diese Befunde stimmen mit den Untersuchungen von SCHEUER und CLARK (1965) überein, welche ebenfalls mit ^{14}C-Glycerin am perfundierten Rattenherzen keine wesentliche Aufnahme feststellen konnten.

c) Aminosäuren

Daß der intrazelluläre Pool freier Aminosäuren höher ist als deren Plasmakonzentration, wurde bereits durch VAN SLYKE und MEYER (1913/14) entdeckt. SCHARFF und WOOL (1965) konnten in eingehenden Untersuchungen am Rattenherzen nachweisen, daß 53 % der Aminosäuren aus Glutaminsäure, Alanin und Asparaginsäure bestehen. Die Konzentrationen im Herzen sind für

Asparaginsäure	6 mM
Glutaminsäure	8,4 mM
Alanin	4,6 mM
Lysin	1,2 mM
Glycin	1,3 mM

(die Werte sind berechnet auf Zellwasser).

Demgegenüber sind die Konzentrationen im Serum wesentlich geringer (z.B. für Asparaginsäure 0,03 mM, für Lysin 0,03 mM,

für Glycerin 0,27 mM und für Glutaminsäure 0,1 mM). Über den Mechanismus dieser Konzentrierung in der Zelle weiß man noch nicht sehr viel. Zwei Möglichkeiten kommen in Betracht: einmal, daß im Herzstoffwechsel schneller Aminosäuren aufgebaut werden als diese oxydiert bzw. eliminiert werden. SCHARFF und WOOL (1965) konnten nachweisen, daß bei Perfusion Aminosäuren im Perfusat nach 60 Minuten nachweisbar waren und das Herz an solchen Aminosäuren verarmte. Umgekehrt konnte nach Durchströmung mit Aminosäuren in einer Konzentration, die dem Plasma entsprach, diese Abgabe vermindert werden. Sie konnten auch eine Aufnahme einzelner Komponenten nachweisen. Die andere Möglichkeit könnte nur über einen Carrier-Mechanismus erklärt werden, der selektiv Aminosäuren gegen einen Gradienten in der Herzmuskelzelle anhäuft.

Einige Befunde von SCHARFF und WOOL (1965) sprechen für die Stoffwechseltheorie: sie konnten bei reiner Durchströmung mit Glucose ohne Aminosäuren im Medium eine erhöhte Konzentration von Aminosäuren im intrazellulären Wasser des Herzens finden und eine Verringerung der Abgabe in das Medium. Woher der ninhydrin-positive Stickstoff stammte, konnte nicht geklärt werden.

Diese Befunde sind für die Deutung unserer Untersuchungen insofern wichtig, als wir auch mit wesentlich höheren Konzentrationen, welche die intrazellulären Aminosäurekonzentrationen noch überschreiten, kaum einen nennenswerten Anteil am oxydativen Stoffwechsel feststellen konnten.

Für Na-L-^{14}C-Aspartat betrug der Anteil des oxydierten Substrates am Gesamt-Sauerstoffverbrauch maximal etwa 7 %, die mittlere Decarboxylierungsrate in µMol betrug etwa 13 % des mittleren Glucoseumsatzes. Nach den Untersuchungen von BING und seiner Arbeitsgruppe (1967) wird beim Menschen eine Beteiligung von etwa 5,6 % an myokardialem Sauerstoffverbrauch angenommen. Dies würde mit unseren Werten übereinstimmen, doch muß dabei betont werden, daß beim Menschen die Serumkonzentrationen für Aminosäuren wesentlich niedriger liegen als es bei unseren Versuchen der Fall war.

Durch Insulin oder Zusatz von Glucose konnte die Decarboxylierungsrate von ^{14}C-Na-Aspartat nicht beeinflußt werden. Dagegen steigerte sie sich nach Adrenalinzugabe, allerdings prozentual wesentlich geringer als bei Fettsäure, Glucose oder Pyruvat. Als Energielieferant für akute Leistungssteigerung scheiden daher Aspartate sicher aus.

Bei dem ebenfalls untersuchten ^{14}C-Na-Glutaminat ist insofern eine Besonderheit festzustellen, als Glutaminat, wie auch Glycinat und Lysinat eine wiederholbare vorübergehende positiv-ino- und -chronotrope Wirkung am spontanschlagenden Herzvorhof besitzen.

Mit ^{14}C-Glutaminat läßt sich dabei zeigen, daß gleichlaufend mit dieser Leistungssteigerung auch Glutaminat sehr rasch und gesteigert oxydiert wird. Diese Decarboxylierungserhöhung im Moment der positiv-ino- und -chronotropen Wirkung kann 20 % des mittleren Glucoseumsatzes entsprechen und beträgt damit 14 % am gesteigerten Sauerstoffverbrauch. Mit Abklingen dieser Wirkung beträgt die Umsatzrate nur noch 0,085 µMol/h . 100 mg F.G. und der Umsatz am Gesamt-Sauerstoffverbrauch ist dann 6 %. Interessant ist, daß eine Leistungssteigerung von wesentlich größerem Ausmaß mit Adrenalin die Decarboxylierungsrate von ^{14}C-Glutaminat nur wesentlich geringfügiger beeinflussen kann. Einer Frequenzsteigerung um 50 % und einer Leistungssteigerung um 349 % folgt eine Decarboxylierungssteigerung des ^{14}C-Glutaminats von nur 27 %. Die Insuffizienz für den Energiestoffwechsel bei Leistungssteigerung zeigt sich auch an der schnell einsetzenden Kontraktur. In diesem Zusammenhang ist interessant, daß inaktives Glutaminat während der kurzen positiv-ino- und -chronotropen Wirkung die Decarboxylierungsrate von ^{14}C-Glucose und ^{14}C-Hexanoat signifikant vorübergehend unterdrücken kann, während eine Leistungssteigerung durch Adrenalin bei gleichzeitiger Anwesenheit des inaktiven Glutaminats die Steigerung der Decarboxylierungsrate von ^{14}C-Glucose oder ^{14}C-Na-Hexanoat in keiner Weise hemmt. Ganz ähnliche Befunde wurden mit nichtmarkiertem Glycin und Lysin bei Inkubation mit ^{14}C-Glucose und ^{14}C-Na-Hexanoat beobachtet. Da die Wirkungen

offensichtlich nur dann eintreten, wenn eine höhere Außenkonzentration zugeführt wird und trotz gleichbleibender Außenkonzentration die positiv-ino- und -chronotrope Wirkung sofort wieder verschwindet, wie auch die Decarboxylierungsrate der Substrate wieder auf die Norm zurückkehrt, scheint für diese drei Aminosäuren ein Aufnahmemechanismus über einen Membrancarrier möglich, der ähnlich, wie auch bei Glucose beobachtet, die Kontraktionsleistung positiv beeinflußt, bis ein intrazellulärer Mechanismus eine gesteigerte Aufnahme im Stoffwechsel inhibiert.

In einer besonderen Versuchsreihe wurden verschiedene Aspartatverbindungen in ihrer Wirkung auf Kontraktionsleistung und Oxydationsrate von ^{14}C-Glucose und ^{14}C-Na-Hexanoat untersucht. Bei den insgesamt 14 untersuchten Aspartatverbindungen fiel auf, daß nur diejenigen, die Ca als Kation enthielten, positiv-ino- und -chronotrope Wirkungen aufwiesen, die mit der üblichen Steigerung der Decarboxylierungsrate einhergingen. Alle Verbindungen, die Na und Mg enthielten, wirkten im höheren Konzentrationsbereich stark negativ-ino- oder -chronotrop, entsprechend der Ca-antagonistischen Wirkung von Mg u.K. Die für die anderen drei Aminosäuren beobachtete vorübergehende positiv-inotrope Eigenwirkung blieb bei Aspartat aus.

Aus unseren Befunden können wir nur schließen, daß die geprüften exogenen ^{14}C-Aminosäuren sich offensichtlich nur zu geringem Prozentsatz ($\sim$ 5 %) am oxydativen Stoffwechsel beteiligen und dies bei Konzentrationen, die über den intrazellulären Aminosäurekonzentrationen liegen. Möglicherweise ist damit die geringe Oxydation der Aminosäuren auch mit eine Ursache für die Akkumulierung in der Zelle.

In unseren Untersuchungen wurde nicht die Einbaurate in Proteine und die Frage einer Erhöhung der intrazellulären Aminosäurekonzentrationen geprüft.

2. Die Beeinflussung der Oxydationsrate von ^{14}C-Glucose, ^{14}C-Na-Hexanoat und ^{14}C-Na-Aspartat durch stoffwechselwirksame Agentien

Eine Reihe von Substanzen, die sich bei Enzymreaktionen als Co-Faktoren wirksam erwiesen hatten, wie: Nikotinsäure, Nicethamid und das chemisch verwandte Pyridyl-Carbinol, ferner Carnitinchlorid, α - Liponsäure, Cocarboxylase, Biotin und das Hormon Insulin wurden in ihrer Herzwirksamkeit geprüft.

Sowohl Nikotinsäure als auch Pyridyl-Carbinol zeigten negativ-ino- und -chronotrope Effekte, die von entsprechender Abnahme der Decarboxylierungsrate von ^{14}C-Glucose und bei Nikotinsäure auch von ^{14}C-Na-Hexanoat begleitet wurde. Ein direkter Stoffwechseleffekt, der nicht leistungsbedingt war, konnte nicht nachgewiesen werden.

Insulin zeigte keine Erhöhung der Oxydationsrate exogenen Hexanoats oder Aspartats. Auch die Decarboxylierungsrate exogener ^{14}C-Glucose konnte durch Insulin nur gesteigert werden, wenn der Herzvorhof vorher an Glykogen verarmt war und mit niederen ^{14}C-Glucosekonzentrationen inkubiert wurde. Es ist zunächst nicht zu entscheiden, ob in diesem Fall die verstärkte $^{14}CO_2$-Rate direkt auf einer gesteigerten Glucoseaufnahme beruht oder aus ^{14}C-markiertem Glykogen stammt, da nach Untersuchungen von DALLMEIER (1970) und JÄGER (unveröffentlicht) ^{14}C-Glucose durch Insulin auch verstärkt durch Glykogen fließt.

Nicethamid wirkte positiv-inotrop und erhöhte auch entsprechend die Decarboxylierungsrate. Carnitin, das nach Untersuchungen von BRESSLER und FRIEDBERG (1963) an Herzhomogenaten von Meerschweinchen die Aminosäureoxydation erhöht und den Einbau von Fettsäuren in Phospholipide steigert, war auf die Kontraktion ohne Wirkung, zeigte aber eine deutliche Erhöhung der Decarboxylierungsrate von Glucose, während die von freien Fettsäuren und Aspartat unbeeinflußt blieb.

Unwirksam waren α - Liponsäure, Cocarboxylase und Biotin.

.Die Beeinflussung der Oxydation exogener ^{14}C-Substrate durch leistungssteigernde Agentien

a) ß-Rezeptoren stimulierende Stoffe

Nach allen bisherigen Befunden wird die Oxydationsrate exogener ^{14}C-Substrate außer durch kompetitive Beeinflussung im Stoffwechsel konkurrierender Stoffe in erster Linie durch leistungssteigernde oder leistungshemmende Stoffe beeinflußt.

Seitdem SUTHERLAND et al. (1965) die Hypothese aufgestellt haben, daß das zyklische 3'-5'-AMP einen "second messenger" in der Zelle darstellt, ist auch für den Herzmuskel von verschiedener Seite diese Frage angegangen worden: zyklisches 3'-5'-AMP entsteht im Herzmuskel aus ATP bei Anwesenheit von Magnesium-Ionen. Diese Reaktion wird durch das Ferment Adenylcyclase, das in der Zellmembran lokalisiert ist, aktiviert. Diese Adenylcyclase wiederum reagiert auf sog. "first messenger" (u.a. Hormone). Eine Stimulierung dieser Adenylcyclase erfolgt für die verschiedenen Organe nicht immer durch die gleichen Hormone, doch ist auffallend, daß für Fettgewebe und Herzmuskel, z.B. Glucagon, Schilddrüsenhormon (Thyroxin) wie ß-Rezeptoren stimulierende Agentien (Adrenalin) in ähnlicher Weise wirken. Dabei muß aber diese Stimulierung über der Adenylcyclase durch diese Stoffe über verschiedene Rezeptorenmechanismen erfolgen, da z.B. trotz Hemmung der ß-Rezeptoren mit Propranolol* eine Stimulierung mit Glucagon noch möglich ist (BISCHOFF, unveröffentlicht). Das entstandene zyklische 3'-5'-AMP stimuliert nun als "second messenger" die verschiedensten Stoffwechselvorgänge in der Zelle. Im Herzmuskel kommt es zur Aktivierung der Phosphorylase, welche zum sofortigen Glykogenabbau führt. Umstritten ist dagegen die Frage, ob zyklisches AMP direkt für eine positiv-ino- und -chronotrope Wirkung verantwortlich ist.

WILLIAMSON und JAMIESON (1965) fanden eine zeitliche Dissoziation zwischen Beginn der Muskelkontraktion und Aktivierung der Phosphorylase. MAYER et al. (1963) fanden, daß mit sehr niedriger Konzentration von Adrenalin wohl die Kontraktilität, aber noch nicht die Phosphorylase aktiviert wurde. Nun könnte dies daran

*zugabe

liegen, daß zyklisches AMP bereits die Kontraktilität bei geringem Anstieg fördert und die Phosphorylaseaktivierung erst in einem höheren Konzentrationsbereich. Interessant ist in diesem Fall, daß es gelingt, durch Hemmung der Phosphordiesterasen, welche das zyklische AMP in 5'-AMP umwandelt, mit Methylxantinen (Coffein und Theophyllin) ähnliche positiv-ino- und -chronotrope Effekte zu erzeugen, wie es unter Adrenalin beobachtet werden kann.

KUKOVETZ et al. (1968) konnten mit dem lipidlöslichen Dibutyryl-3'-5'-AMP am isolierten Herzen eine positiv-ino- und -chronotrope Wirkung hervorrufen, welche der von Theophyllin ähnlich war. Sie konnte durch Theophyllinzugabe gesteigert werden. Durch Propranolol konnte dieser Effekt nicht gehemmt werden, so daß unwahrscheinlich erschien, daß Dibutyryl-3'-5'-AMP im Herzen nur Adrenalin freisetzte und dadurch zur Wirkung kam.

In unseren Untersuchungen zeigten die ß-Rezeptoren stimulierenden Agentien Aludrin und D 477 A große Ähnlichkeit mit Glucagon und Euphyllin, sowohl hinsichtlich der positiv-ino- und -chronotropen Wirkung, wie auch der Steigerung der Decarboxylierungsrate von ^{14}C-Glucose und ^{14}C-Na-Hexanoat.

Wichtig erscheint in diesem Zusammenhang noch einmal zu erwähnen, daß auch die Decarboxylierungsrate von ^{14}C-Aminosäuren durch Leistungssteigerung erhöht werden konnte, wenn auch in prozentual etwas niedrigerem Umfang als bei den oben erwähnten Substraten.

Es finden sich aber noch deutliche Unterschiede: mit Isoprenalin (Aludrin^{R}) 2 . 10^{-6} g/ml lassen sich wirkungsgleiche Effekte, wie mit entsprechenden Konzentrationen von Adrenalin erzeugen, nur fällt auf, daß die Wirkung mit Isoprenalin länger anhält. Die Oxydationsrate exogener ^{14}C-Glucose nimmt im Verlauf von Stunden noch weiter zu, offensichtlich mit dem Schwund der endogenen Glykogenvorräte. Die Oxydationsrate von ^{14}C-Na-Hexanoat verläuft dagegen nach einem anfänglichen kurzen Gipfel über Stunden auf dem erhöhten Niveau weiter, sofern gleichzeitig noch mit 15 mM inaktiver Glucose inkubiert wurde.

Einen etwas anderen Wirkungsmechanismus zeigte die von BECKER et al. (1966) untersuchte Substanz 1-(3-Hydroxyphenyl)-2-(phenylbutyl-(2)-amino)-äthanol-(1) = D 477). Bei einer schwach positiv-ino- und -chronotropen Wirkung, die bei einschleichenden Konzentrationen sogar vermieden werden kann, kommt es bei allmählicher Steigerung der Dosierung sogar zu einer Frequenzabnahme. Nachfolgende hohe Konzentrationen von Adrenalin bleiben hinsichtlich des positiv-ino- und -chronotropen Effektes wirkungslos. Dagegen läßt sich interessanterweise dabei die Decarboxylierungsrate von ^{14}C-Glucose trotz unveränderter Leistung (Abb. 17) noch weiter steigern. Da hier mit Pyruvat die Oxydation exogener Glucose weitgehend unterdrückt war, könnte eine gesteigerte $^{14}CO_2$- Bildung aus endogenem markiertem Glykogen vorliegen. Auch die Decarboxylierungsrate von ^{14}C-Na-hexanoat wird insofern beeinflußt, als Adrenalin die mit dem Frequenzabfall parallel laufende Abnahme der Oxydationsrate stoppt, trotzdem die Frequenz weiter abfällt. Es liegt hier demnach eine Verbindung vor, die eine ausgesprochene Affinität zu ß-Rezeptoren besitzt, ohne eine starke Wirkung auf die Kontraktilität zu besitzen. Damit erscheint sie im gewissen Sinne als eine ß-Rezeptoren blockierende Substanz, gegenüber Stoffen, die eine stärkere leistungssteigernde Wirkung haben (Adrenalin und Isoprenalin = Aludrin^{R}). Stoffwechselwirkungen, die Adrenalin zugeschrieben werden, scheinen diese Substanzen aber nicht zu blockieren.

In ähnlicher Weise, wie es bei echten ß-Rezeptorenblockern beobachtet wurde, verhindert D 477 trotz Anwesenheit von Adrenalin die toxische frequenzsteigernde Phase von Strophanthin.

b) Glucagon

Unsere Effekte mit Glucagon stimmen mit den Untersuchungen von KREISBERG und WILLIAMSON (1964) überein, die am isolierten Rattenherzen eine Erhöhung der Glucoseaufnahme und Lactatproduktion, verbunden mit einem Glykogenschwund nach Glucagoninfusion, fanden. Auch die Decarboxylierung von Acetat war bei ihren Untersuchungen erhöht. Die Steigung der Oxydationsrate geht konform mit der Leistung.

Auffällig ist in unseren Befunden, daß sich die Wirkung von Glucagon nur einmal auslösen ließ und daß auch in 6 mal höheren Konzentrationen sich keine positiv-ino- und -chronotrope Wirkung mehr wiederholen ließ. Die anfänglich gesteigerte Decarboxylierungsrate von ^{14}C-Glucose geht parallel zur Frequenzsenkung allmählich auf Normalwerte zurück.

c) Euphyllin (Theophyllin^{R})

Im Unterschied zu Glucagon zeigte Euphyllin eine wiederholbare konzentrationsabhängige Steigerung der positiv-ino- und -chronotropen Wirkung, die allerdings erst bei hoher Dosierung beginnt, dafür aber ausgeprägt ist und lang anhält. Auch hier findet sich ein Parallelgehen zwischen Frequenzsteigerung und Erhöhung der Decarboxylierungsrate, die später mit zunehmendem Glykogenschwund sich prozentual stärker erhöht als die Frequenz.

d) Strophanthin

Wie bereits früher eingehend dargestellt (SIESS, 1969), führt ausschließliche Erhöhung der Leistung durch positiv-inotrope Wirkung nach g-Strophanthin zu wesentlich geringer Erhöhung der Decarboxylierungsrate von ^{14}C-Glucose und ^{14}C-Na-Hexanoat als es dem Leistungsanstieg entspricht, so daß sich hier der Nutzeffekt des exogen zugeführten Substrats erhöht. In vergleichbaren Untersuchungen mit gleichzeitiger Bestimmung des Sauerstoffverbrauchs (SCHARE, 1968; KELLER, 1970) fiel auf, daß der mittlere Sauerstoffverbrauch bei 100 %iger Leistungssteigerung prozentual geringer anstieg als die Oxydationsrate des exogenen Substrats, so daß angenommen werden muß, daß die endogenen Anteile am Sauerstoffverbrauch bei Leistungssteigerung durch Strophanthin eher herabgesetzt werden, wenn ausreichend exogene Substrate zur Verfügung stehen.

In einem Versuch, bei dem auf dem Gipfel der positiv-inotropen Wirkung eine Frequenzsteigerung durch Euphyllin hervorgerufen wurde, kam es sehr rasch zur Rückstandskontraktur. Da dieses Phänomem auch mit Adrenalin und auch bei spontaner Frequenzsteigerung in der toxischen Phase beobachtet wurde, kann der Schluß

gezogen werden, daß jede Frequenzsteigerung bei einer vorher therapeutischen g-Strophanthin-Konzentration den positiv-inotropen Effekt in die Rückstandskontraktur überleiten kann. Umgekehrt konnte sehr deutlich gezeigt werden, daß alle Eingriffe, welche einen solchen Frequenzanstieg verhindern (ß-Rezeptorenblocker), diese toxische Phase der Strophanthinwirkung auch zeitlich zumindest verzögern. Dies stimmt mit Befunden, die WAGNER et al. (1967) und KELLER (1970) erheben konnten, überein.

Während Arrhythmien in der toxischen Phase der Strophanthinwirkung durch ß-Rezeptorenblocker nur schwer beeinflußt wurden, gelang es, mit Diphenylhydantoin (Epanutin^{R}) Rhythmusstörungen in der toxischen Phase von Strophanthin zu beeinflussen. Dies gelingt allerdings erst in Konzentrationen, welche bereits eine negativ-inotrope Eigenwirkung besitzen ($1 \cdot 10^{-4}$ g/ml).

4. Hemmwirkungen

Den drei untersuchten Stoffen Oxprenolol (Trasicor^{R}) als ß-Rezeptorenblocker und Procain sowie Lidocain als Lokalanästhetika kommen in vergleichbaren Konzentrationsbereichen ähnliche leistungshemmende Wirkungen zu. Dabei fällt auf, daß die negativ-inotrope Wirkung als Eigenwirkung früher auftritt und stärker ausgeprägt ist als die frequenzsenkende Wirkung. Da die Abnahme der Decarboxylierungsrate der Frequenz folgt und im Vergleich zur Leistungsabnahme damit relativ erhöht bleibt, sinkt der Nutzeffekt des exogen zugeführten Substrates ab. Dies bedeutet nun nicht, daß hier eine Entkoppelung der oxydativen Phosphorylierung stattfindet, sondern es handelt sich offensichtlich (nach FLECKENSTEIN et al., 1967) um eine "elektromechanische Entkoppelung", bei der die energiereichen Phosphate im Herzmuskel sogar noch zunehmen können (FLECKENSTEIN et al., 1967). Dies zeigt sich auch in unseren Untersuchungen deutlich, da die negativ-inotrope Wirkung bei allen drei Substanzen durch Leistungssteigerung mit Strophanthin durchbrochen und sogar auf Werte über die Ausgangsleistung gebracht werden konnte. Interessant ist der Unterschied zwischen den ß-Rezeptorenblockern und

den Lokalanästhetika. Während bei ersteren mit einer Konzentration von $1 \cdot 10^{-5}$ g/ml eine folgende Adrenalinwirkung völlig unterdrückt werden kann, findet sich bei noch höheren Konzentrationen von $5 \cdot 10^{-5}$ g/ml Lidocain bei nachfolgender Adrenalinzugabe eine vollausgeprägte, nichtgehemmte Leistungssteigerung, die weit über die Normalleistung hinausgeht. Betrachtet man die ähnlichen negativ-ino- und -chronotropen Wirkungen beider Substanzgruppen, so kann daraus noch nicht gesagt werden, daß sie auf dem gleichen Mechanismus (lokalanästhetischer Mechanismus) beruhen müssen. Phenobarbital, das sicher keinen lokalanästhetischen Effekt aufweist, zeigt nach Untersuchungen von FLECKENSTEIN (1967) und BISCHOFF (1970) ähnliche negativ-inotrope Wirkung, die ebenfalls durch Adrenalin oder durch Strophanthin zu durchbrechen ist.

V. Z U S A M M E N F A S S U N G

1. Mit der Methode der gleichzeitigen kontinuierlichen Registrierung von Kontraktionsleistung und Decarboxylierungsrate exogener ^{14}C-markierter Substrate wurde an insgesamt 134 Meerschweinchenherzvorhöfen die Oxydation von ^{14}C-Substraten des Kohlenhydrat-, Fett- und Proteinstoffwechsels sowie ihre wechselseitige Beeinflussung und ihr Verhalten unter verschiedenen herzwirksamen Agentien geprüft.

2. Die Michaelis-Konstante von ^{14}C-Na-Nonanoat liegt mit einem K_m von 0,18 mM niedriger als diejenige von ^{14}C-Na-Hexanoat (0,46 mM). Die maximale Umsatzrate V_{max} ist mit 0,256 µMol/h . 100 mg F.G. gegenüber der von Hexanoat mit 1,1 µMol/h . 100 mg F.G. ebenfalls herabgesetzt, auch wenn man diesen Wert auf den theoretischen Sauerstoffverbrauch bezieht.

3. Im Unterschied zu Hexanoat, das die ^{14}C-Glucose-Oxydation bis zu 80 % kompetitiv hemmen kann, wird mit Nonanoat nur eine maximale Hemmung bis zu 40 % beobachtet.

4. ^{14}C-Glycerin wird bei Konzentration von 10 mM nur in geringfügigem Grade oxydiert (0,042 µMol/h . 100 mg F.G.) und mit einem Anteil von 3 % am Gesamt-Sauerstoffverbrauch verbrannt. Bei Leistungssteigerung erhöht sich dieser geringe Anteil prozentual in ähnlichem Verhältnis, wie der von ^{14}C-Glucose oder ^{14}C-Na-Hexanoat, so daß Glycerin keine ausreichende Energiequelle für den Herzvorhof darstellt. Es kommt unter Adrenalin zur Energiemangelkontraktur.

5. ^{14}C-(U)-Na-Aspartat sowie ^{14}C-(U)-Na-Glutaminat werden bei 10 mM Außenkonzentration nur in geringem Umfang oxydiert: 0,0877 µMol/h . 100 mg F.G. Dies entspricht einer Beteiligung von 7 % am mittleren Sauerstoffverbrauch. Für ^{14}C-Na-Glutaminat

liegt dieser Wert mit 0,058 µmol/h . 100 mg F.G. (6 % Anteil am Gesamt-Sauerstoffverbrauch) in der gleichen Größenordnung. Nur während der vorübergehenden positiv-ino- und -chronotropen Wirkung von ^{14}C-Na-Glutaminat erhöht sich dessen Oxydation geringfügig.

6. Die geprüften Aminosäuren: Asparaginsäure, Glutaminsäure, Glycin und Lysin zeigten bei Leistungssteigerung durch Adrenalin, daß sie keine ausreichende Energiequelle für den Herzvorhof darstellen. Glutaminsäure, Glycin und Lysin zeigten kurzfristige positiv-ino- und -chronotrope Eigenwirkungen, welche regelmäßig mit einer kurzfristigen Hemmung der Oxydation von ^{14}C-Glucose oder ^{14}C-Na-Hexanoat einhergingen.

7. Die 14 geprüften Aspartatverbindungen zeigten nur positiv-ino- und -chronotrope Wirkungen, wenn sie als Calciumsalze verwandt wurden. Bei Natriumsalzen wurde eine leichte negativ-inotrope Wirkung festgestellt, bei Kalium- und Magnesiumverbindungen war dies noch stärker ausgeprägt.

8. Nikotinsäure, Nicotinylalkohol (Ronicol) und Nicethamid (Coramin) zeigten keine positive oder negative Beeinflussung der Oxydationsrate, die nicht durch Leistungsänderung erklärt werden konnte.

   α - Liponsäure (Thioctacid), Cocarboxylase (Thiaminpyrophosphatchlorid) und Biotin waren in Konzentrationen bis zu 2 . 10^{-5} g/ml ohne Einfluß auf Leistung und Oxydation von ^{14}C-Na-Hexanoat, ^{14}C-Glucose und ^{14}C-Na-Aspartat. Carnitinchlorid zeigte bei 1 . 10^{-4} g/ml eine Hemmung der Herzleistung und eine Erhöhung der Decarboxylierungsrate von ^{14}C-Glucose, dagegen nicht von ^{14}C-Na-Hexanoat oder ^{14}C-Na-Aspartat.

   Insulin (5 mE/ml) bewirkte eine vorübergehende schwache negativ-inotrope Wirkung, die Decarboxylierungsrate von Hexanoat und Aspartat wurde nicht beeinflußt, diejenige von Glucose nur, wenn Herzvorhöfe vor Inkubation mit ^{14}C-Glucose durch Adrenalin am Glykogen verarmt wurden.

9. Positiv-ino- und -chronotrope Wirkungen mit entsprechender Erhöhung der Decarboxylierungsrate von ^{14}C-Substraten ließen sich mit Stimulierung von ß-Rezeptoren (Adrenalin, Isoprenalin und 1-(3-Hydroxyphenyl)-2-(phenylbutyl-(2)-amino)-äthanol-(1) = D 477 A sowie mit Glucagon und Theophyllin hervorrufen. Die Decarboxylierungsrate stieg dabei prozentual in annähernd gleichem Verhältnis an wie die Frequenz. g-Strophanthin führte bei gleichbleibender Frequenz zu einem wesentlich geringeren Anstieg der Decarboxylierungsrate, bezogen auf die Zunahme der Herzleistung; Frequenzsteigerung auf dem Maximum der positiv-ino- und -chronotropen Wirkung führte zur toxischen Rückstandskontraktur.

10. In ähnlicher Weise führten leistungshemmende Substrate wie Oxprenolol (Trasicor) als ß-Rezeptorenblocker sowie Lidocain und Procain als Lokalanästhetika erst zu negativ-ino- und später auch zu -chronotroper Wirkung ($5 \cdot 10^{-7}$ g/ml bis $5 \cdot 10^{-5}$ g/ml).
Bei allen drei Substanzen ist diese Leistungsminderung nach Zusatz von Strophanthin voll aufhebbar, mit Adrenalin dagegen nur die bei den beiden Lokalanästhetika. Herabsetzung der Frequenz durch ß-Rezeptorenblocker verhindert die toxische Frequenzbeschleunigung von Strophanthin und verzögert damit die Kontraktur. Toxische Rhythmusstörungen von Strophanthin werden durch Diphenylhydantoin (Epanutin) erst in Konzentrationen ($1 \cdot 10^{-4}$ g/ml), welche negativ-inotrop wirken, beeinflußt.

VI. L I T E R A T U R V E R Z E I C H N I S

Becker, K.H.
Boltze, K.-H.
Lorenz, D.
Oberdörster, G.
Phenylbutylamino-Derivate mit stimulierendem Effekt auf die adrenergischen ß-Rezeptoren und ihre Wirksamkeit auf den Coronarkreislauf des Hundes. Arzneimittel-Forschung (Drug-Res.)16, 833-835 (1966),

Bing, R.J.
Der Myocardstoffwechsel, Klin.Wschr. 34,1 (1956),

Bing, R.J.
Cardiac Metabolism Phys.Rev.,45,171 (1965)

Bing, R.J.
Herzstoffwechsel, Das Medizinische Prisma 5,67 (1967),

Bischoff, M.
Med.Inaug.Dissert. (in Vorbereitung, 1970)

Bressler, R.
Friedberg, S.J.
Control of fatty acid oxidation in the heart, Clin.Res. 11,215, No. 2 (1963),

Dallmeier, R.
Untersuchungen zur Frage der Beteiligung der Lipide am Energiestoffwechsel des spontanschlagenden, isolierten Meerschweinchenherzvorhofes, Med.Inaug.Dissert. Marburg (1970)

Fleckenstein, A.
Kammermeier, H.
Döring, H.J.
Freund, H.J.
Zum Wirkungsmechanismus neuartiger Koronardilatatoren mit gleichzeitig Sauerstoff-einsparenden Myokard-Effekten, Prenylamin und Iproveratil, Fortschritte der Forschung, No. 7,S. 716-744 (1967) No. 8,S. 839-858 (1967),

Geissler, J.
Eine Methode zur kontinuierlichen Messung des Sauerstoffverbrauches isolierter Meerschweinchenherzvorhöfe unter gleichzeitiger Bestimmung der Kontraktionsleistung, Med.Inaug.Dissert. Marburg (1967),

Glomme, H. — Untersuchungen über die Regulationen der Energiebildung aus dem Kohlehydrat- und Fettstoffwechsel im isolierten Meerschweinchenherzvorhof und ihre Beeinflussung durch Pharmaka, Med.Inaug.Dissert., Marburg,(1968),

Itzel, W. — Die Beteiligung des Glykogens am Energieumsatz isolierter, spontanschlagender Herzvorhöfe in Abhängigkeit von exogenen Substraten und nach Einwirkung von Adrenalin, Med.Inaug.Dissert., Marburg,(1969),

Keller, H. — Die gleichzeitige und kontinuierliche Messung von Kontraktionsleistung, Frequenz, Decarboxylierungsrate ^{14}C-markierter Substrate und Sauerstoffverbrauch isolierter, spontanschlagender Meerschweinchenherzvorhöfe als Methode zur Prüfung herzwirksamer Pharmaka, Med.Inaug.Dissert., Marburg,(1970),

Kreisberg, R.A.
Williamson, J.A. — Metabolic effects of glucagon in the perfused rat heart, J. Physiol. 207, No. 3, 721, 27 (1964),

Kukovetz, W.R.
Pöch, G. — Weitere Untersuchungen über die Dissoziierbarkeit von Phosphorylaseaktivierung und Kontraktilitätssteigerung am isolierten Herzmuskel, Naunyn-Schmiedebergs Arch.f.Pharm.u.exp.Path., Bd. 253, Heft 1, S. 61 (1966),

Kukovetz, W.R. — Über die Wirkung von Dibutyryl-3'5'-AMP am isolierten Herzen, Naunyn-Schmiedebergs Arch.exp.Pharm.u.exp.Path., Bd. 260, [illegible], S. 159 (1968),

Mayer, S.E. / De Cotten, H.V. / Moran N.C. — Dissociation of the Augmentation of Cardiac Contractile Force from the Activation of [illegible] by Catecholamines, [illegible], 27 (1963),

Müller, R. — [illegible] - zeitigen Bestimmung der Leistung und des Substratverbrauches isolierter [illegible] - Meerschweinchen, Med.Inaug.Dissert. Marburg, (1965),

Peter, U. — Leistung und Glucosedecarboxylierung isolierter Meerschweinchenherzvorhöfe nach Einwirkung von Pharmaka unter verschiedenen [illegible] Bedingungen, Med.Inaug.Dissert. [illegible] (1967),

Range, H. — Untersuchungen über Ökonomie der Herzmuskelleistung unter Sympathomimetika, ß-Rezeptorenblockern und g-Strophanthin, Med.Inaug.Dissert. Marburg (1970),

Schare, E. — Untersuchungen über die Bedeutung des Substrats für Sauerstoffverbrauch und Nutzeffekt isolierter Meerschweinchenherzvorhöfe vor und nach Leistungssteigerung durch g-Strophanthin und Adrenalin, Med.Inaug.Dissert. Marburg (1968)

Scharff, R. and Wool, J.C. — Accumulation of Amino Acids in Muscle of Perfused Rat Heart, Biochem. J. 97, 257 (1965),

Scheuer, J. Green, R.D. — Triglyceride Metabolism in the Isolated Perfused Rat Heart, Clin.Res.No.2, S.219 (1965)

Schneider, P. — Aufnahmekinetik, Konkurrenz und Nutzeffekt ^{14}C-markierter Substrate des Kohlehydrat- und Fettstoffwechsels im Herzmuskel vor und nach Einwirkung von Adrenalin, Med.Inaug.Dissert. Marburg (1969),

Shipp, J.C. Thomas, L.J. Crevasse, L. — Oxidation of Carbon-14-labeled Endogenous Lipids by Isolated Perfused Rat Heart, Science Bd. 143, S. 371-373 (1964),

Shipp, J.C. Opie, L.H. Challoner, D. — Fatty Acid and Glucose Metabolism in the perfused Heart, Nature, Bd. 189, S.1018-1019 (1961),

Siess, M. Müller, K. Peter, U. — Die kontinuierliche Messung der Decarboxylierungsgeschwindigkeit ^{14}C-markierter Substrate des Fett- und Kohlehydratstoffwechsels in isolierten Meerschweinchenherzvorhöfen unter gleichzeitiger Bestimmung der Kontraktionsleistung als Methode zur Prüfung herzwirksamer Agentien, Arzneim.-Forsch., Bd. 18, S.1245 (1968),

Siess, M.
Glomme, H.E.

Die Decarboxylierungsgeschwindigkeit von ^{14}C-Glucose und ^{14}C-Hexanoat im isolierten Meerschweinchenherzvorhof in Abhängigkeit von der extrazellulären Substratkonzentration, ihrer Konkurrenz sowie der direkten Einwirkung von Pharmaka,
Arzneim.-Forsch. Bd. 18, S.1357 (1968),

Siess, M.

Direct and Indirect Pharmacological Effects on the Decarboxylation Rate of ^{14}C-Glucose and ^{14}C-Fatty Acids in isolated Atria of Guinea Pigs,
in Glasson-Laser:
The Use of Radioactive Isotopes in Pharmacology" p. 357 - 374,
J. Wiley and Sons, Lt. Chichester,
England (1969),

Siess, M.

Kinetics of Decarboxylation Rate, Mutual Competition and Efficiency of ^{14}C-Carbohydrates and ^{14}C-Fatty Acids in the Intact Heart Muscle Cell,
Abstracts of the 6. FEBS-Meeting
Madrid, (1969), No. 365, p. 126,

Sutherland, E.W.
Butcher, R.W.
Meng, H.C.

Adenosine 3'-5'-Phosphate in Biological Materials,
The Journal of Biological Chemistry
Vol. 240, No. 11, (1965),

Vahouny, V,
Katzen, R,
Entenmann, C,

Myocardial metabolism II. Role of nutritional state on palmitate and glucose oxydation by isolated perfused hearts,
Biochem.Biophys.Acta 137, 181-183 (1967)

Van Slyke, D.D.
Meyer, G.M.
(1913-14) J. Biol.Chem. 16,197 zitiert nach Scharff and Wool : Accumulation of Amino Acids in Muscle of Perfused Rat Heart, Biochem. J. 97, 257 (1965),

Wagner, J.
Fratz, K.,
Greeft, K.
Der Einfluß ß-adrenolytischer Substanzen auf die Wirkung der Digitalisglykoside,
Naunyn Schmiedeb.Arch.f.Pharm.u. exp.Path., 257, 75 - 76 (1967)

Williamson, J.R.
Jones, E.A.
Inhibition of Glycolysis by Pyruvate in Relation to the Accumulation of Citric Acid Cycle Intermediates in the Perfused Rat Heart,
Nature 203/1171(1964),

Williamson, J.R.
Jamieson, D.
Dissociation of the Inotropic From the Glycogenolytic Effekt of Epinephrine in the Isolated Rat Heart,
Nature (Lond.) 206, 364 (1965),

Wool, I.G.
Relation of effects of insulin on amino acid transport and on Protein synthesis,
Vol, 24, No. 5 (1965)

Ther, L.
Grundlagen der experimentellen Arzneimittelforschung.
Wissenschaftl. Verlagsges. m. b. H.
(Stuttgart, 1965).

L e b e n s l a u f

Am 31. August 1940 wurde ich, János Bartos, als Sohn des Bäckermeisters Josef Bartos und seiner Ehefrau Maria geborene Hierholz in Budaörs/Ungarn geboren.

Von 1946 bis 1954 besuchte ich die Volksschule und anschließend das "Budai Nagy Antal" - Gymnasium in Budafok. 1956 verließ ich Ungarn.

Ab April 1957 besuchte ich das Ungarische Gymnasium in Burg Kastl/bei Amberg und ab Mai 1958 das Rheingauschule-Gymnasium in Geisenheim/Rhg., wo ich am 10. März 1960 die Reifeprüfung bestand.

Ab Wintersemester 1960/61 studierte ich 3 Semester an der Technischen Hochschule Stuttgart Elektrotechnik. Nach Studienwechsel war ich ab Sommersemester 1962 bis zum Wintersemester 1967/68 an der Philipps-Universität in Marburg immatrikuliert, bestand am 28. April 1965 die zahnärztliche Vorprüfung und am 23. Juli 1968 das Staatsexamen.

Im November 1968 begann ich mit dem experimentellen Teil der vorliegenden Arbeit.

Am Schluß meiner Arbeit danke ich Herrn Professor Dr. med. M. S i e s s für die Überlassung des Themas und die großzügige und freundliche Unterstützung und Anleitung bei Durchführung der Arbeit.

Fräulein Bamberger und Herrn Rau danke ich für ihre wertvolle Hilfe bei der Ausgestaltung der Arbeit, Herrn Jung für die Fertigung und Reparatur der Glasteile und dem Feinmechanikermeister Herrn Otto für die Anfertigung der Muskelhalterung.

Meine akademischen Lehrer waren die Herren Professoren und Dozenten in:

Leipzig:

Bernhöft, Bonner, Bücher, Dilthey, Dölle, Gedigk, Hennis, Hering, Heuser, Hohorst, Janke, Klingenberg, Korb, Lang, Mahr, Mann, Marx, Niemeyer, Niessing, Pantke, Peters, Petry, Pfütz, Rohen, Rodeck, Rosemann, Salfeld, Seidel, Schiff, Schimasek, Schmid, Schmidt, Siegert, Siess, Staib, Streicher, Strohmeyer, Vogt, Walcher.